



Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs : cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles

Floriane Flacher

► To cite this version:

Floriane Flacher. Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs : cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles. Interactions entre organismes. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016. Français. NNT : 2016PA066017 . tel-01361300

HAL Id: tel-01361300

<https://theses.hal.science/tel-01361300>

Submitted on 7 Sep 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Pierre et Marie Curie

École doctorale 227 « Sciences de la Nature et de l'Homme »

Institut d'Écologie et des Sciences de l'Environnement de Paris (iEES-Paris)
Équipes *Écologie et Évolution des réseaux d'interactions* & *Écologie intégrative*

Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs : cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles

Par Floriane FLACHER

Thèse de doctorat en Écologie

Dirigée par Isabelle DAJOZ et Xavier RAYNAUD

Présentée et soutenue publiquement le 18 mars 2016

Devant un jury composé de :

M. Alan Gange	Professeur, Royal Holloway University of London, Londres (Royaume-Uni)	Rapporteur
M. Richard Michalet	Professeur, Université de Bordeaux, Bordeaux (France)	Rapporteur
Mme Martine Maïbèche	Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)	Examineur
M. Denis Michez	Docteur, Université de Mons, Mons (Belgique)	Examineur
Mme Isabelle Dajoz	Professeur, Université Paris Diderot, Paris (France)	Directeur de thèse
M. Xavier Raynaud	Maître de conférences, Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)	Directeur de thèse



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Université Pierre et Marie Curie

École doctorale 227 « Sciences de la Nature et de l'Homme »

Institut d'Écologie et des Sciences de l'Environnement de Paris (iEES-Paris)
Équipes *Écologie et Évolution des réseaux d'interactions* & *Écologie intégrative*

Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs: cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles

Par Floriane FLACHER

Thèse de doctorat en Écologie

Dirigée par Isabelle DAJOZ et Xavier RAYNAUD

Présentée et soutenue publiquement le 18 mars 2016

Devant un jury composé de :

M. Alan Gange	Professeur, Royal Holloway University of London, Londres (Royaume-Uni)	Rapporteur
M. Richard Michalet	Professeur, Université de Bordeaux, Bordeaux (France)	Rapporteur
Mme Martine Maïbèche	Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)	Examineur
M. Denis Michez	Docteur, Université de Mons, Mons (Belgique)	Examineur
Mme Isabelle Dajoz	Professeur, Université Paris Diderot, Paris (France)	Directeur de thèse
M. Xavier Raynaud	Maître de conférences, Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)	Directeur de thèse



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

A mes parents et Benoît

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier mes co-directeurs de thèse, **Isabelle Dajoz** et **Xavier Raynaud**. Merci à vous de m'avoir proposé ce stage de Master 2 qui m'a ensuite ouvert les portes de la thèse. Je vous remercie de m'avoir fait confiance pendant ces 3 années et demie. J'ai apprécié d'avoir la possibilité de prendre des initiatives, de pouvoir mener les expériences par moi-même, tout en sachant que je pouvais compter sur vos conseils et votre aide en cas de besoin. Merci aussi à vous deux pour votre écoute et votre humanité tout au long de cette thèse, je l'ai beaucoup appréciée lorsque j'ai pu vous faire part de mes doutes et appréhensions. Xavier je te remercie aussi pour ton infinie patience et ta pédagogie face à mes questions (répétées) de statistiques ! Enfin, je vous remercie pour vos précieux conseils pendant la rédaction, qui, je l'avoue, a été éprouvante ! Le syndrome de la page blanche est, paraît-il, courant mais je ne m'attendais pas à cela ! Merci d'avoir été si compréhensifs et patients !

Je remercie la région Île-de-France pour le financement de ce travail de thèse via le DIM R2DS. Je remercie également la Fédération Île-de-France pour de Recherche sur l'Environnement pour le financement de la première expérience.

Je tiens ensuite à remercier **Alan Gange** et **Richard Michalet** pour avoir accepté d'être mes rapporteurs de thèse et d'avoir ainsi contribué à l'amélioration de ce travail de thèse. Je remercie également **Denis Michez** et **Martine Maïbeche** d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse, respectivement en tant qu'examineur et présidente du jury, me permettant ainsi d'approfondir et ouvrir ma réflexion sur ma problématique.

Je souhaite aussi remercier les membres de mon comité de thèse, **Mathilde Baude**, **Laure Turcati**, **Sébastien Filoche** et **Marc-Andre Selosse**, qui ont su m'apporter de précieux conseils tout au long de cette thèse.

Je voudrais ensuite remercier les personnes qui m'ont accompagnée sur le terrain et dans le suivi quotidien des expérimentations. Je pense tout particulièrement à **Amandine Hansart**. C'est bien simple, je n'aurais pas réussi à mener mes expérimentations sans ton aide et ta patience ! Et je n'aurais pas non plus appris à tirer à l'arc ! Alors merci Amande ! Merci pour ton énergie et ta motivation sur le terrain. Ce fut un réel plaisir de travailler à tes côtés. Merci aussi pour ta présence et ton humanité. Avec toutes tes petites attentions, tu as su m'apporter un peu de légèreté

dans les périodes difficiles. Entre les œufs de Pâques, les stylos magiques et les élixirs anti-stress, j'ai été choyée ! Cela va être difficile de retrouver une telle coéquipière !

Merci également à **Eric Motard** pour sa bonne humeur et ses connaissances botaniques sans bornes. Merci à **Jacques Mériguet** pour ses conseils et son aide (musclée !) sur le terrain.

Je voudrais aussi remercier l'ensemble des stagiaires qui m'ont apporté leur aide. Tout d'abord **Séléné Verstraet** pour sa motivation sans faille et son enthousiasme ainsi que **Abdou Fofana** pour son implication et sa curiosité débordante. Je remercie aussi **Océane Vincent**, **Alice Gauthey**, **Elisa Rousset**, **Fanny Grossi**, **Manon Bataille**, **Ludovico St Amour di Chanaz** et tous les autres stagiaires du CEREEP qui ont pu donner un coup de main pendant les printemps 2013 et 2014. Merci également à toute l'équipe du CEREEP pour son accueil chaleureux et ses barbecues / tournois de jeux ! Plus particulièrement merci à **Beatriz Decencièrre** et **Samuel Perret** qui m'ont prêté main forte plusieurs fois.

Je tiens désormais à remercier mes collègues de labo qui m'ont permis de passer de jolis moments. Je pense d'abord aux collègues de l'ex-BIOEMCO, plus particulièrement à **Ambre David**, **Alix Sauve**, **Henri de Parseval**, **Aleksandar Rankovic**, **Benoît Gauzens**, **Stéphane Loisel**, **David Carmignac**, **Catherine Muneghina**, **Jean-Christophe Lata** et **Jacques Mériguet**. Merci à vous tous pour l'ambiance si particulière que vous avez su créer au sein du labo. Merci pour tous les goûtés régionaux, bières et karaokés partagés ! Je pense bien sûr aussi à **Kejun Zou**, **Imen Louati**, **Guillaume Chérel** et tous les autres. Du côté de Jussieu, je souhaiterais remercier mes compères de bureau. Je pense notamment à **Claudie Haussy**, **Romain Peronnet**, **Thomas Garcia** et tonton (!) **Timothé Cook** qui ont contribué à l'ambiance si chaleureuse du bureau 703. Plus particulièrement je pense à **Marion Chatelain** et **Thomas Brom**. Marion, depuis la licence 2, nous nous sommes suivies jusqu'à nous retrouver dans le même bureau pour notre thèse ! Cela nous aura même valu le surnom de « siamoises » ! Que d'après-midi à parler chiffons et cuisine, que de soirées à aller danser à La Bellevilloise ou au Rosa bonheur. Je suis ravie de tout ce temps passé en ta compagnie et je compte bien ajouter de nouvelles choses à notre fameuse liste de sorties ! Merci pour ton amitié et ta présence. Thomas, compère de cantine, c'est toujours un plaisir de papoter sciences, expos ou ...chatons (!) avec toi. Merci pour ton aide sur R (oui j'installerai un jour NppToR !) et tes conseils pour les enseignements. Merci aussi à toi pour l'ambiance musicale et grivoise du bureau qui m'a mise de bonne humeur bien des fois ! Il m'aura fallu un peu de temps pour ne plus m'offusquer de tes blagues, maintenant c'est moi qui en propose ! Je pense également à **Clémentine Renneville**. Clémentine, comme tu es souvent par monts et par vaux, c'est toujours un peu la fête quand on t'aperçoit au labo ! Tu es toujours

partante pour rire, à l'écoute des autres et pleine de bonnes idées. Comme cette expédition à la Cité des Sciences pour la fameuse braderie de livre ! Merci à toi pour nos séances papotage. Un grand merci à vous trois mais aussi à **Marie Vaugoyeau, Ewen Georgelin et Anaïs Bompard** pour les pique-nique au bord de la Seine, les parties de Molki, et soirées choucroute / tartiflette ! Je pense également à **Josefa Bleu, Marta Gallardo Ruiz, Aurore Picot, Andreaz Dupoué, Pierre Quévreux** et aux « petits nouveaux », **Gabrielle Ringot, Loïc Prosnier, Eric Tromeur et Marwan Cheikh Albassatneh**. Petite pensée également pour **Julien Gasparini et Adrien Frantz**, les deux plaisantins du 7^e étage. Je garderais de très bons souvenirs des pauses déjeuner à la cantine en votre compagnie (malgré quelques incidents « techniques »!).

Enfin merci aussi à l'incroyable équipe administrative qui a su faire face à mes questions et doutes incessants sur les conventions de stage et autres états de frais. Merci **Paola Paradisi, Catherine Muneghina, Johana Azzi et Carole Bousquet** pour votre patience.

Je n'oublie pas non plus les copains et copines de toujours qui a coup de week-end par ci et de week-end par là m'apportent toujours autant de fous rires et de souvenirs. Merci à vous **Romain, Tiffany, Sophie, Laura, Lucile, Thomas, Ludivine et Sonia**.

Je me tourne désormais vers ma famille. Merci à mes parents, **Annie et Pierre**, pour leur incroyable soutien et leurs petites attentions qui me portent au quotidien. Merci pour votre patience, votre générosité. Je remercie également mes frères, **Mathieu et Fabien**. Merci à vous pour vos conseils avisés de grands frères ! Merci Mathieu pour ta sensibilité et ta capacité à m'ouvrir à d'autres mondes que celui des sciences. Merci Fabien pour ton écoute (et ta sagesse d'ancien thésard!) sans oublier tes invitations du dimanche soir. Merci aussi à leurs charmantes tribus, **Maria, Roxane, Eliott et Pernette, Lorelei, Hypatie**. Merci aussi à **Tatie Chat**, à **Marraine et Patou** et à tous celles et ceux que je ne cite pas mais que je n'oublie pas.

Enfin je tiens à te remercier mon **câlin**. Tout est plus doux avec toi. Merci pour ta présence et ton soutien au quotidien. Merci pour ta patience et ton écoute. Tu sais me donner confiance, m'encourager, me bousculer même ! Et surtout tu me fais rire ! Rien de tel après une rude journée de rédaction ! Mon câlin je te remercie pour ton enthousiasme et toutes tes attentions qui m'ont portés ces derniers temps. C'est bien grâce à toi que j'ai pu ce relever ce joli défi. Merci pour tout ce que tu es, pour ton sourire et ta poésie. Que j'ai hâte, désormais, de pouvoir me laisser bercer avec toi par le doux son de la mer, *paisibles*...

Sommaire

Remerciements.....	7
 I. Introduction générale.....	 17
1. Les interactions biotiques : diversité et complexité au cœur des communautés naturelles	17
1.1 De l'étude d'interactions individuelles à la notion de réseau d'interactions	17
1.2 Variabilité spatiale et temporelle des interactions entre espèces	18
1.3 Importance des interactions interspécifiques au sein des communautés naturelles.....	19
1.4 Les plantes, éléments centraux, à l'interface entre plusieurs réseaux d'interactions.....	21
.	
2. Les plantes au cœur de réseaux d'interaction : cas des interactions plantes-pollinisateurs.....	24
2.1 Importance de la pollinisation et enjeux actuels liés au service écosystémique de pollinisation.....	24
2.2 La pollinisation au sein des communautés de plantes Angiospermes.....	24
2.3 Les traits impliqués dans l'attractivité d'une plante aux insectes pollinisateurs.....	26
2.4 Le nectar, un trait majeur d'attractivité aux pollinisateurs	28
2.5 Conséquences sur le succès reproducteur.....	29
2.6 Modification de l'attractivité aux pollinisateurs : importance de la composition de la communauté végétales et de la disponibilité des ressources.....	30
3. La compétition interspécifique dans les communautés végétales, facteur modulateur des interactions plantes-pollinisateurs ?.....	33
3.1 La compétition entre plantes : définition et généralités.....	33
3.2. Mécanismes de la compétition par exploitation pour les ressources du sol.....	34
3.3 Quelles conséquences de la compétition entre plantes pour les ressources du sol sur les interactions plantes-pollinisateurs.....	37
 II. Objectifs de la thèse et méthodes générales	
1. Objectifs de la thèse.....	41

2. Méthodes générales.....	45
2.1 Mesure de l'attractivité d'une plante entomophile aux pollinisateurs.....	45
2.2 Mesure des interactions de compétition entre plantes.....	47
II. Chapitre 1	
Influence de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur des traits floraux impliqués dans l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles	
Présentation du chapitre 1.....	53
Article 1: Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species.....	55
III. Chapitre 2	
Compétition entre plantes et traits fins d'attractivité aux pollinisateurs	
Présentation du chapitre 2.....	73
Article 2 : Does competition with wind-pollinated species alter <i>Echium plantagineum</i> attractiveness to a common pollinator, <i>Bombus terrestris</i> ?.....	76
IV. Chapitre 3	
Compétition entre plantes pour les ressources du sol et conséquences sur l'attraction de pollinisateurs sauvages	
Présentation du chapitre 3.....	117
Article 3 : Belowground competition induced by wind-pollinated species influence attractiveness of an insect-pollinated plant, <i>S. alba</i> , to wild pollinators.....	120
VI. Conclusion générale et perspectives.....	155
Références bibliographiques.....	164

I. Introduction générale

[...] Hobbes: *It's like having a big white
sheet of paper to draw on!*
Calvin: *Its' a magical world, ol' buddy,
let's go exploring! [...]*

Bill Watterson,
Calvin & Hobbes, 1995

Introduction générale

Diversité et complexité sont probablement les termes qui caractérisent le mieux l'ensemble des interactions entre organismes au sein des écosystèmes. Au cours de cette thèse, j'ai cherché à mettre ces aspects en évidence en m'intéressant plus particulièrement aux effets des interactions au sein des communautés végétales et comment ces interactions influencent les interactions avec d'autres organismes. Je me suis alors concentrée sur l'étude des interactions de compétition entre plantes et leur influence sur des interactions mutualistes : les relations plantes-pollinisateurs.

1. Les interactions biotiques : diversité et complexité au cœur des communautés naturelles

1.1 De l'étude d'interactions individuelles à la notion de réseau d'interactions

Historiquement, les relations entre espèces ont d'abord été étudiées entre deux espèces. C'est ainsi qu'une grande diversité d'interactions a pu être décrite (Voir Box 1). L'étude de ces interactions a permis de mettre en évidence de grands mécanismes et concepts écologiques. Nous pouvons notamment citer la modélisation des dynamiques proies-prédateurs (Lotka, 1925 ; Volterra, 1926) ou encore les travaux de Gause (1934) sur le principe d'exclusion compétitive. Par la suite, des systèmes plus complexes ont été étudiés, notamment en intégrant de nouveaux compartiments ou espèces. De ces travaux, ont émergé les concepts de chaînes trophiques puis de réseaux, se rapprochant ainsi de la complexité des relations entre organismes observées au sein des communautés naturelles. Alors que les chaînes trophiques ne décrivent que les relations « mangeurs-mangés » entre quelques compartiments successifs, les réseaux sont une représentation plus large des interactions interspécifiques (nombre d'espèces, types d'interactions concernées, Ings *et al.*, 2009). Via l'étude de ces chaînes et réseaux trophiques, de nouvelles notions ont pu être dégagées. C'est le cas notamment des effets indirects comme la compétition apparente (Holt, 1977) ou les cascades trophiques (Paine, 1980). Dans le cas d'une cascade trophique par exemple, un prédateur (niveau n) en diminuant l'abondance de ses proies (niveau n-1) conduit ainsi à un relâchement

de la pression de consommation exercée sur les niveaux trophiques inférieurs (niveau n-2, e.g. producteurs primaires). Ces effets indirects seraient d'une grande importance dans les communautés naturelles (Walsh, 2013). L'étude des réseaux d'interaction a, quant à elle, conduit à s'intéresser à l'architecture des relations entre espèces. Connectance, modularité, emboîtement, sont autant de caractéristiques pouvant décrire la topologie des réseaux (Massol *et al.*, 2015). Ces paramètres peuvent être d'une grande importance au sein des communautés. L'architecture des réseaux pourrait, par exemple, fortement influencer la capacité d'un réseau à persister dans le temps (persistance) ou à retourner à un état initial après perturbation (résilience). Thébaud & Fontaine (2010), ont ainsi démontré que des réseaux fortement emboîtés et connectés favorisent la stabilité des réseaux mutualistes alors que les réseaux trophiques sont plus stables lorsqu'ils sont compartimentés et peu connectés. Pour aller plus loin dans l'étude des réseaux d'interactions, certains travaux récents se sont focalisés sur l'étude simultanée de plusieurs types d'interactions étudiés séparément jusqu'à présent (Fontaine *et al.*, 2011; Kéfi *et al.*, 2012). Ainsi certains auteurs se sont intéressés aux couplages compétition-prédation (Chase *et al.* 2002), compétition-herbivorie (van der Wal *et al.*, 2000), prédation-parasitisme (Lafferty *et al.*, 2008; van Veen *et al.*, 2008) ou mutualisme-antagonisme (Bronstein *et al.*, 2003; Melián *et al.*, 2009; Georgelin & Loeuille, 2014; Sauve *et al.*, 2014). Dans la même logique, et afin d'avoir une vision plus globale, certaines études sont allées jusqu'à relier des interactions entre compartiments d'un écosystème (aquatique/terrestre : Nakano & Murakami, 2001 ; Knight *et al.*, 2005), terrestre souterrain/terrestre aérien (Bardgett *et al.*, 1998; Van der Putten *et al.*, 2001, Wardle *et al.*, 2004; Poveda *et al.*, 2003, 2005; Barber & Soper-Gorden, 2015). L'enjeu actuel semble donc d'adopter une démarche intégrative, en s'intéressant simultanément à plusieurs types d'interactions ou en cherchant à relier divers compartiments d'un écosystème.

1.2 Variabilité spatiale et temporelle des interactions entre espèces

Outre cette complexité topologique, s'ajoute une variabilité spatiale et temporelle. Une variabilité spatiale tout d'abord, car selon les conditions (micro)-climatiques, les paramètres physico-chimiques, la disponibilité des ressources ainsi que la composition des communautés, qui s'influencent mutuellement, peuvent varier. Par ailleurs, il existe différents types de distribution spatiale des ressources (homogène, hétérogène) de même que les individus d'une population peuvent être répartis de manière aléatoire, régulière ou agrégée au sein d'un écosystème (Ricklefs & Miller, 2005). Ces paramètres peuvent donc influencer les

interactions entre organismes. Mais lorsqu'on parle de variabilité spatiale, la notion d'échelle est également importante. Par exemple, le lien entre le contexte paysager et l'abondance ou la richesse d'une communauté de pollinisateurs peut fortement varier selon les échelles considérées (Steffan-Dewenter *et al.*, 2002). Les interactions entre espèces sont également variables dans le temps. Ces variations peuvent être journalières, saisonnières ou annuelles. Par exemple, la composition des communautés de plantes et de pollinisateurs peut fortement varier au sein d'une saison (Olesen *et al.*, 2008) voire d'une année sur l'autre (Alarcon *et al.*, 2008; Dupont *et al.*, 2009) modifiant ainsi l'architecture des réseaux de pollinisation (Olesen *et al.*, 2008).

1.3 Importance des interactions interspécifiques au sein des communautés naturelles

Il apparaît évident que les interactions entre espèces jouent un rôle central dans le fonctionnement et l'évolution des écosystèmes. Les flux de matière et d'énergie notamment sont influencés par les relations trophiques (Begon *et al.*, 2006 ; Tirard *et al.*, 2012). De même, la structure des communautés (richesse et composition spécifique, abondances relatives), bien que fortement dépendante des conditions abiotiques (conditions climatiques, disponibilité en lumière, eau, nutriments), est également influencée par les interactions interspécifiques qui y ont lieu. Enfin, les interactions entre espèces sont un moteur de diversité. En effet chaque partenaire peut exercer des pressions de sélection sur l'autre, affectant ainsi la survie et/ou la reproduction. En réponse à ces pressions, une des espèces partenaires peut subir une modification de traits susceptible d'influencer à son tour des traits de l'autre espèce (Tirard *et al.*, 2012). Lorsqu'au moins deux espèces influencent ainsi réciproquement l'évolution de l'autre, on parle de coévolution. Les processus coévolutifs ont été largement étudiés dans le cas d'interactions antagonistes (hôte-parasite/parasitoïde, plante-herbivore, proie-prédateur) et mutualistes (plantes-pollinisateurs, plantes-disperseurs de graine/fruits) (Begon *et al.*, 2006) et seraient à l'origine d'une diversification des espèces chez certains taxons (Danforth, 2007).

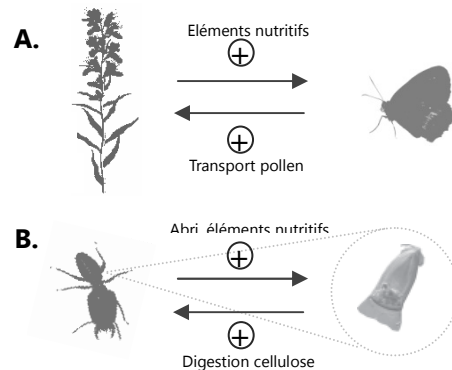
Box 1 : Diversité d'interactions interspécifiques au sein des communautés

+/+ : mutualisme / symbiose

Interaction au cours de laquelle les deux partenaires tirent des bénéfices réciproques. La symbiose mutualiste implique nécessairement une relation étroite et obligatoire entre les partenaires contrairement au mutualisme.

A : Mutualisme Plante – Pollinisateur

B : Symbiose Termite – Micro-organismes

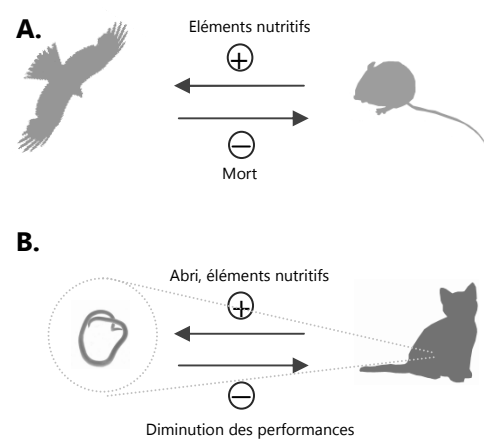


+/- : prédation / herbivorie / parasitisme

Interaction au cours de laquelle un des partenaires tire des bénéfices au détriment des autres. Les parasites entretiennent avec leur hôte une relation intime, durable et obligatoire. Dans le cas de la prédation (ou de l'herbivorie pour les plantes), le lien entre les deux partenaires est plus bref et radical (notamment la prédation qui induit systématiquement la mort d'un partenaire).

A : Prédation Rapace – Rongeur

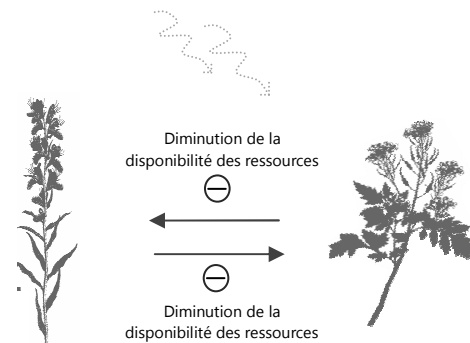
B : Parasitisme Nématode - Mammifère



-/- : compétition

Interactions au cours de laquelle les partenaires ont une influence négative réciproque. Selon le principe d'exclusion compétitive de Gause (1932), l'utilisation commune d'une ressource limitée peut mener à l'élimination de l'espèce la moins compétitive pour cette ressource. Bien que l'espèce la plus compétitive se maintienne dans le milieu, ses performances sont également diminuées.

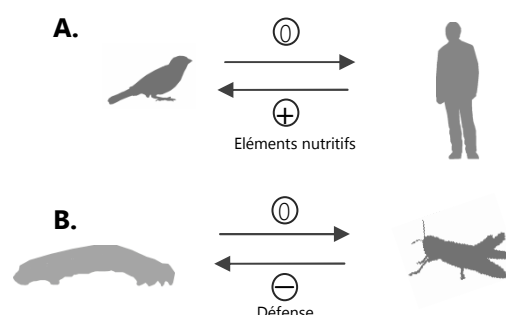
A : Compétition entre plantes pour la lumière



0/+ commensalisme et 0/- amensalisme

Interactions au cours desquelles un des partenaires exerce une influence positive (commensalisme) ou négative (amensalisme) sur l'autre partenaire sans subir de coût ni tirer de bénéfice.

A : Commensalisme Moineau – Homme



1.4 Les plantes, éléments centraux, à l'interface entre plusieurs réseaux d'interactions

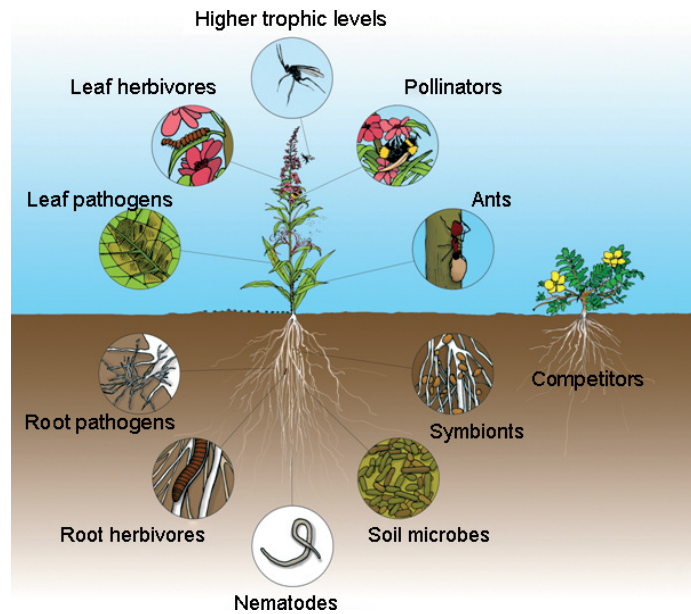
Que ce soit dans la revue de van Dam en 2009 ou le réseau d'interaction publié par Pocock *et al.* en 2012, la communauté végétale se trouve au centre d'un ensemble d'interactions diverses, soulignant ainsi l'importance des communautés de plantes au sein des écosystèmes. Producteurs primaires, organismes à l'interface entre le milieu hypogé et le milieu épigé, les plantes font partie de réseaux complexes et interagissent également entre elles et avec leur milieu. En ce sens, elles illustrent parfaitement la complexité et la diversité des interactions précédemment évoquées et constituent donc un modèle de choix pour une approche intégrative.

1.4 a) Les plantes à l'interface de plusieurs réseaux d'interactions

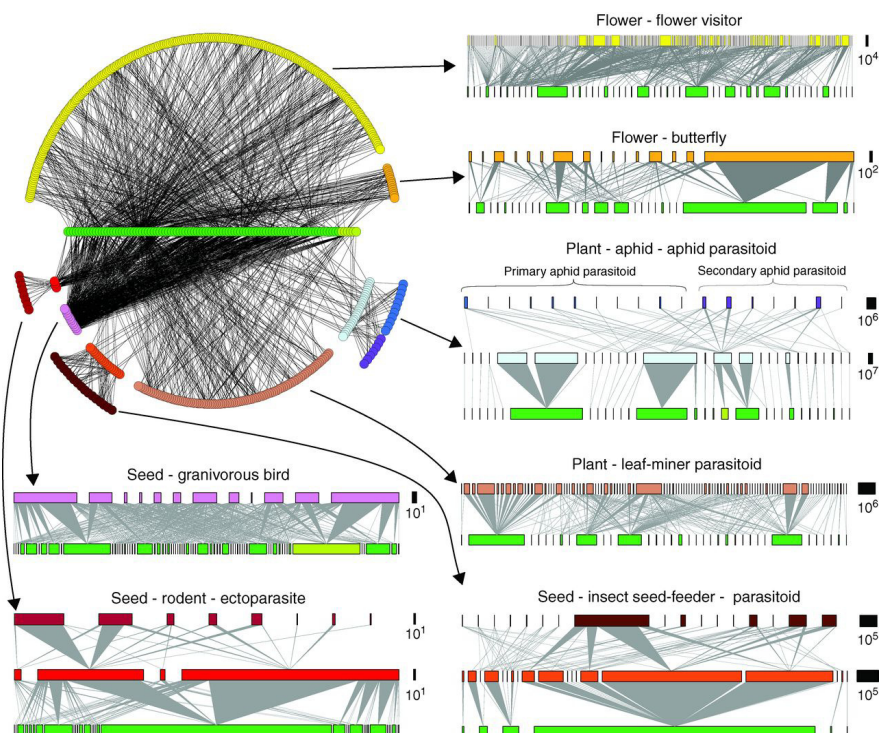
Bien qu'il existe d'autres types d'interactions entre espèces végétales (Callaway, 1995), la compétition interspécifique pour les ressources constitue une interaction majeure au sein des communautés de plantes. En modulant les performances des espèces en interaction, la compétition influence la distribution, la composition et la diversité des communautés végétales naturelles (Goldberg & Barton, 1992). A une échelle plus large, les communautés de plantes sont notamment intégrées dans des interactions mutualistes et antagonistes. Parmi les partenaires mutualistes, nous pouvons citer les pollinisateurs ou les champignons mycorhiziens qui vont respectivement avoir un rôle dans la reproduction d'une majorité de plantes (Ollerton *et al.*, 2011) ou dans leur nutrition (Marschner & Dell, 1994). En ce qui concerne les interactions antagonistes, les plantes sont principalement confrontées à des herbivores et parasites. Ces interactions vont moduler les performances de leur plantes hôtes (Gurevitch *et al.*, 2006) : les herbivores en diminuant la surface des structures d'acquisition des ressources (feuilles, racines) ; les pathogènes en dérivant une partie de l'énergie produite pour leur propre bénéfice. Par ailleurs les interactions antagonistes impliquent souvent des résistances ou mécanismes de défense pouvant rentrer en conflit avec des partenaires mutualistes (Adler & Irwin, 2005). Bien sûr, les interactions entre espèces ne sont pas toujours aussi clairement définies dans la nature. Dans certains cas il existerait plutôt un continuum d'interaction. C'est le cas notamment des champignons mycorhiziens dont l'effet peut aller du mutualisme à des relations proches du parasitisme, notamment selon les conditions du milieu (Johnson *et al.*, 1977 ; Johnson & Graham, 2013).

Box 2 : Les communautés végétales, éléments centraux des écosystèmes.

a. Représentation schématique de l'ensemble des organismes avec lesquels une espèce végétale est susceptible d'interagir (tiré de van Dam, 2009)



b. Réseaux d'interactions entre espèces à l'échelle d'une ferme (Royaume-Uni). L'ensemble du réseau des réseaux est affiché en haut à gauche, et des visualisations quantitatives sont présentées pour chacun des sept réseaux individuels quantifiés (tiré de Pocock et al., 2012)



1.4 b) Des interactions entre réseaux par l'intermédiaire d'un compartiment commun

Outre des interactions entre plantes et leurs partenaires, le réseau proposé par Pocock *et al.* 2012 soulève également la présence d'effets indirects au sein des communautés naturelles. En effet, les plantes se trouvent bien souvent au sein d'interactions multitrophiques, à plusieurs niveaux. Bien qu'il existe une ambiguïté dans le cas de la compétition par exploitation (Strauss 1991), nous définirons les effets indirects comme l'ensemble des relations au sein desquelles un organisme va avoir en effet sur un autre via une troisième espèce jouant le rôle d'intermédiaire. Parmi ces interactions, la compétition apparente (Holt, 1977) et les cascades trophiques (Paine, 1980) sont probablement les plus étudiés ("top down" et "bottom up" (Hanley & La Pierre, 2015). Dans le cas d'une régulation "top down" c'est le niveau trophique supérieur qui exerce un contrôle sur les niveaux trophiques inférieurs. Ainsi dans le cas d'une relation proie-prédateur, c'est le prédateur qui va influencer la structure et la dynamique du réseau. En interagissant directement avec les proies, celui-ci influence également, mais de manière indirecte, les niveaux trophiques inférieurs tels que les producteurs primaires. A l'inverse, dans le cas d'une régulation "bottom-up", c'est la disponibilité en nutriments et donc les producteurs primaires qui modulent la structure et la dynamique du réseau jusqu'aux niveaux supérieurs. Ainsi, l'ensemble de ces observations confirme la complexité et la diversité des interactions au cœur des communautés naturelles.

Bien que les interactions écologiques aient été largement étudiées, leur diversité et leur complexité soulèvent encore de nombreuses questions et débats (Agrawal *et al.*, 2007 ; Mayer *et al.*, 2011, Trinder *et al.*, 2013). A l'heure actuelle, l'enjeu principal reste d'adopter une démarche intégrative, reliant les interactions et compartiments d'un écosystème. Les communautés de plantes, au centre d'interactions diverses et complexes constituent un modèle de choix pour de telles problématiques. Parmi les interactions précédemment citées, les relations de pollinisation sont d'une importance majeure pour une large part des espèces végétales actuelles. Il apparaît ainsi essentiel de s'intéresser à leur fonctionnement et réponse en relation avec d'autres interactions.

2. Les plantes au cœur de réseaux d'interaction : cas des interactions plantes-pollinisateurs

Au cours de cette deuxième partie, nous nous intéresserons au fonctionnement des interactions plantes-pollinisateurs. Nous verrons par ailleurs que ces relations peuvent être modifiées suites à des variations de l'environnement biotique ou abiotique.

2.1 Importance de la pollinisation et enjeux actuels liés au service écosystémique de pollinisation

En assurant la reproduction de nombreuses espèces végétales cultivées, la pollinisation constitue un service écosystémique pour l'Homme. A l'heure actuelle le service écosystémique de pollinisation semble menacé (Steffan-Dewenter *et al.*, 2005 ; Vanbergen *et al.*, 2013). En effet de nombreuses études soulèvent un déclin des pollinisateurs qui menace la reproduction et le rendement de nombreuses cultures dépendantes de la pollinisation (Potts *et al.*, 2010, Tylianakis, 2013, Lever *et al.*, 2014). Le déclin observé des pollinisateurs semble également associé au déclin de certaines espèces végétales sauvages (Biesmeijer *et al.*, 2006). A l'heure actuelle, les communautés de plantes semblent donc également subir de profondes modifications (Lavergne *et al.*, 2006) tant du point de vue de leur composition que de leur fonctionnement. En 2012, une liste de la Flore de France métropolitaine publiée par l'UICN révélait que 513 des 878 espèces étudiées sont actuellement menacées. Les principales causes évoquées dans le déclin parallèle plantes-pollinisateurs sont d'origine anthropique : le changement climatique, la fragmentation des habitats, l'utilisation de produits chimiques (herbicides, pesticides) ou encore l'introduction (volontaire ou non) d'espèces (natives ou non) (Potts *et al.*, 2010).

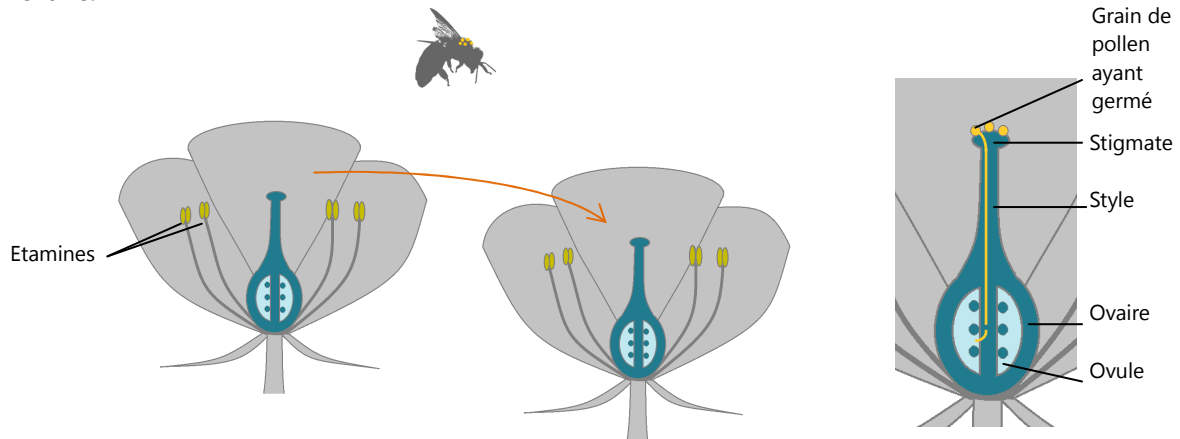
2.2 La pollinisation au sein des communautés de plantes Angiospermes

Bien que les premiers événements de pollinisation aient été décrits chez des Gymnospermes il y a plus de 100 millions d'années (Ren *et al.*, 2009 ; Peñalver *et al.*, 2012), c'est bien au sein des Angiospermes que ce type d'interaction s'est le plus développé. Les Angiospermes, qui constituent la majorité des espèces végétales actuelles (Crane *et al.*, 2000), sont caractérisées par la production de fleurs, comme organes de reproduction. La pollinisation correspond au transport de pollen des organes mâles jusqu'aux organes femelles d'une même fleur ou d'une

fleur différente afin de permettre la fécondation (voir Box 3). Lorsque la pollinisation (et donc la fécondation) se fait entre fleurs d'un même individu, voire au sein d'une même fleur, on parle d'autopollinisation (autogamie). Néanmoins, la plupart du temps, le transport de pollen s'effectue entre fleurs d'individus distincts (allogamie), on parle de pollinisation (et donc fécondation) croisée. Il existe différents vecteurs de pollen, abiotiques ou biotiques, favorisant une fécondation croisée. Parmi les différents modes de pollinisation, on rencontre l'anémogamie où le vecteur est le vent ainsi que l'hydrogamie où le vecteur est l'eau. On parle alors respectivement d'espèces végétales anémophiles et hydrophiles. En revanche, pour 87,5 % des espèces d'Angiospermes le transport de pollen entre fleurs dépend d'un vecteur animal (zoogamie ; Ollerton *et al.*, 2011). Sous nos latitudes, et plus généralement dans le monde, les insectes constituent le principal groupe de pollinisateurs (Danforth, 2007, Rader *et al.*, 2016) même si certaines espèces végétales peuvent être pollinisées par des oiseaux (colibris), des mammifères (chauves-souris, rongeurs) ou encore des lézards (Proctor *et al.*, 1996). Lorsque les insectes assurent le transport de pollen, on parle de pollinisation entomogame et de plantes entomophiles. Quatre ordres participent plus particulièrement à ce type de pollinisation: les hyménoptères, les diptères, les lépidoptères et dans une moindre mesure les coléoptères. Les hyménoptères, parmi lesquels la super famille des Apoïdae (abeilles et bourdons) constituent probablement les pollinisateurs les plus importants pour la reproduction des Angiospermes. L'abeille domestique (*Apis mellifera*) et les bourdons (*Bombus* spp.) s'avèrent être des pollinisateurs très efficaces pour la majorité des plantes cultivées. Néanmoins, des études récentes ont également démontré la grande importance d'espèces d'abeilles solitaires qui par leur abondance et richesse spécifique (et complémentarité fonctionnelle) assurent la pollinisation de nombreuses espèces végétales sauvages et cultivées (Greenleaf & Kremen, 2006, Winfree *et al.*, 2007, Garibaldi *et al.*, 2013). Enfin, parmi les diptères, ce sont les syrphes qui semblent jouer un rôle important pour certaines cultures comme le colza (Jauker & Wolters, 2008).

Box 3 : La reproduction des Angiospermes (« plantes à fleurs »)

La **fleur** constitue, chez les Angiospermes, l'élément central de la reproduction sexuée. Elles sont notamment le lieu du processus de **pollinisation** : le transport des grains de **pollen** des étamines (organe mâle) vers un stigmate (organe femelle). Le grain de pollen germe alors du stigmate jusqu'à l'ovaire, acheminant, entre autres, un des gamètes mâle jusqu'au gamète femelle, l'ovule, pour **fécondation**. Des graines se développent à partir des ovules fécondés. Elles contiennent un embryon végétal et sont protégées au sein d'un fruit issu de la transformation de la paroi de l'ovaire.



Ci-dessus un exemple de pollinisation croisée chez une espèce entomophile (vecteur : abeille)

2.3 Les traits impliqués dans l'attractivité d'une plante aux insectes pollinisateurs

2.3 a) Traits floraux et préférences des pollinisateurs

Chez la majorité des espèces entomophiles, ce sont les fleurs (nombre, forme, taille, couleur, odeur) et leurs récompenses (pollen et nectar notamment) qui déterminent l'attractivité d'une plante aux pollinisateurs (Dafni, 1992 ; Kearns & Inouye, 1993). La notion d'attractivité renvoie à une interaction réciproque entre la plante et le pollinisateur. Nous distinguerons l'attractivité potentielle, qui correspond seulement à la production de fleurs et de récompenses (cette attractivité est potentielle car elle n'a pas été confirmée par la visite de pollinisateurs) de l'attractivité réelle qui correspond à la réponse, en termes de visites, des insectes pollinisateurs à la production de fleurs et de récompenses.

La vitrine florale, le nombre de fleurs ouvertes en même temps à un moment donné (Ohashi & Yahara, 2001), constitue un paramètre majeur d'attractivité. Elle peut notamment être impliquée dans l'attractivité d'une plante à longue distance. De manière générale, la production d'une large vitrine florale favorise le nombre de visites sur une plante entomophile chez la majorité des pollinisateurs (Conner & Rush, 1996 ; Mitchell et al., 2004 ; Grindeland

et al., 2005 ; Miyake & Sakai, 2005, Makino *et al.*, 2007). Ceci limiterait notamment les coûts associé au vol entre fleurs et à la revisite de fleur. De même la taille des fleurs a tendance à influencer le choix des pollinisateurs qui préfèrent souvent de plus grandes corolles (Conner & Rush, 1996 ; Elle & Carney, 2003). Par ailleurs, l'organisation de l'inflorescence (Pyke, 1978 ; Ishii *et al.*, 2008 ; Iwata *et al.*, 2012) ainsi que la morphologie des fleurs (symétrie notamment, Möller, 1995 ; Hegland & Totland, 2005) peuvent influencer le comportement de visite des pollinisateurs. En ce qui concerne la couleur des fleurs, sur la base de différences du point de vue cognitif, les pollinisateurs ne sont pas tous sensibles aux même longueurs d'ondes, et seraient donc attirés pas des couleurs différentes (Lunau & Maier, 1995 ; Chittka *et al.*, 2001). Il en est de même pour les odeurs (Raguso, 2001 ; Dobson, 2006). Alors que les fleurs influencent l'initiation des visites sur une plante entomophile, les récompenses favorisent la répétition des visites (Dafni, 1992). En effet, le nectar et le pollen constitue les principales sources nutritives et énergétiques des pollinisateurs. Ainsi afin de combler leur besoins énergétiques, certains pollinisateurs privilégient par exemple des visites sur des espèces entomophiles offrant des récompenses plus concentrées en sucres (Cnaani *et al.*, 2006). L'ensemble de ces observations soulève donc l'existence, chez les pollinisateurs, de préférences innées (relatives à leurs capacités cognitives par exemple) mais également acquises (résultats de leur expérience de butinage). En effet, il a été démontré que certains groupes d'insectes pollinisateurs sont capables d'associer certains traits floraux à la qualité des récompenses rencontrées, pouvant ainsi réajuster leurs préférences (Weiss, 1997).

b. Notions de généralisme et spécialisme

En 1862, Darwin prédisait, avec raison, l'existence d'un pollinisateur (*Xanthopan morgani*) aux pièces buccales adaptées à l'éperon floral (long de près de 30cm) d'une orchidée, *Angraecum sesquipedale*. L'espèce pollinisatrice extrêmement spécialiste n'aura été découverte que 41 ans plus tard. Depuis, il est communément admis que, chez les plantes, certains traits floraux (taille, forme, symétrie, couleur ou encore odeur des fleurs) sont particulièrement adaptés aux traits morphologiques, physiologique voire comportementaux de leurs pollinisateurs et inversement. C'est le résultat d'une coévolution souvent fine entre ces partenaires. De ce fait, certains auteurs estiment que les caractéristiques d'une fleur permettraient de prédire le ou les pollinisateur(s) potentiel(s) d'une plante. Il s'agit du « syndrome de pollinisation » dont il existe une déclinaison pour chaque grand groupe de pollinisateurs (Fenster *et al.*, 2004). Ce concept sous-entend une relative spécialisation des pollinisateurs aux plantes et inversement. Cela signifie qu'un pollinisateur (une plante)

spécialiste ne va interagir qu'avec une petite proportion des espèces de plantes (pollinisateurs) de la communauté voire avec une seule espèce uniquement. Néanmoins certains auteurs ont émis des réserves à propos de ce concept. Waser *et al.*, (1996) ont notamment suggéré que le généralisme serait en réalité la règle et non l'exception: plantes et pollinisateurs interagiraient avec une large part de la communauté. De plus le syndrome de pollinisation ne permettrait pas de bien décrire la diversité de phénotypes observées chez les espèces entomophile, ni ne permettrait de prédire les pollinisateurs d'une espèce (Ollerton *et al.*, 2009) faisant que cette problématique de généralisme/spécialisme est aujourd'hui toujours débattue.

2.4 Le nectar, un trait majeur d'attractivité aux pollinisateurs

Chez les espèces entomophiles qui en produisent, le nectar est sécrété au niveau de structures florales ou extra-florales, les nectaires. Selon les espèces nectarifères, les nectaires floraux peuvent se trouver à la base de l'ovaire, des étamines ou des pétales (Heil *et al.*, 2011). Récompense principale des pollinisateurs (Kearns & Inouye, 1993), le nectar est une solution principalement composée de sucres (monosaccharides : fructose, glucose et disaccharides : sucrose). Il contient également des acides-aminées et protéines, des lipides et composés secondaires tels que des alcaloïdes. Il constitue la source principale d'énergie des pollinisateurs. Principalement composé de sucres, le nectar peut être relativement coûteux à produire pour une plante : chez certaines espèces, jusqu'à 37 % du carbone assimilé par jour via la photosynthèse peuvent être allouée à la production de sucres dans le nectar (Southwick, 1984). En parallèle une augmentation de la production de nectar peut conduire à une diminution de la production de graines, suggérant ainsi la mise en place d'un trade-off (Pyke, 1991). La composition et la concentration en sucres du nectar peut varier entre espèces mais aussi entre individus d'une même espèce (Gardener & Gillman, 2001a ; Herrera *et al.*, 2006). Selon les espèces de plantes, la production de nectar peut varier au cours d'une journée, d'une saison, l'effet de l'âge de la plante pouvant avoir un effet positif (Pyke, 1978) ou négatif (Devlin *et al.*, 1987). Les variations observées à l'échelle de la journée présentent souvent un pic de production (Kearns & Inouye, 1993), pouvant dépendre du pic d'activité du pollinisateur (Real 1981). La distribution et la production du nectar peut également être irrégulière au sein d'une communauté de plantes entomophiles, d'une population (Zimmerman 1981) voire au sein même d'une plante (Herrera & Soriguer, 1983 ; Keasar *et al.*, 2008). La variabilité observée dans la distribution ou encore la qualité du nectar entre fleurs d'une même plante peut résulter de caractères propres à la plante (dynamique de production du nectar,

réabsorption) ou de facteurs extérieurs (comportement non aléatoire des pollinisateurs, évaporation, levures dans le nectar) (Kearns & Inouye, 1993, Canto *et al.*, 2007). L'ensemble de ces paramètres peut influencer les communautés de pollinisateurs. Ainsi la production de nectar par fleur est positivement corrélée au taux de visite des pollinisateurs (Kudo & Harder, 2005). De même la production de nectar à l'échelle d'une plante peut influencer le nombre de visites totales reçues par une plante entomophile (Leiss & Klinkhamer, 2005). Par ailleurs, la concentration et composition en sucres ou en acides aminées du nectar peut influencer les pollinisateurs. Cnaani *et al.* (2006) ont par exemple démontré une relation positive entre la concentration en sucre de nectar et le choix d'un bourdon. De même, des papillons peuvent répondre préférentiellement à la présence de sucrose et de fructose dans le nectar (Romeis & Wackers, 2000) tandis que d'autres pollinisateurs choisissent plutôt des nectars comprenant également des acides aminés (Alm *et al.*, 1990). Par ailleurs la composition du nectar en acides aminés pour jouer un rôle important dans son attractivité au pollinisateur (Gardener & Gillman, 2002 ; Petanidou *et al.*, 2006). Petanidou *et al.*, 2006 évoquent également l'effet positif de faibles volumes de nectar (souvent associé à une plus grande concentration en sucres) sur le choix des pollinisateurs. La diversité des nectars peut également être associée à la richesse spécifique de certains groupes de pollinisateurs (Potts *et al.*, 2004). Enfin la distribution du nectar au sein d'une communauté ou d'une inflorescence peut moduler le comportement de visite et décisions de départ sur une plante entomophile (Waddington & Heinrich, 1979 ; Pyke, 1982, Keasar *et al.*, 2008).

2.5 Conséquences sur le succès reproducteur des plantes entomophiles

Afin de mieux comprendre les enjeux liés à l'attractivité d'une plante entomophile, il paraît pertinent de la mettre en relation avec le succès reproducteur des plantes. De nombreuses espèces entomophiles présenteraient une limitation par le pollen, c'est à dire une diminution du succès reproducteur (notamment représenté par une baisse de la production de graine) lors d'un dépôt insuffisant de pollen (en quantité ou qualité) sur le stigmate (Ashman *et al.*, 2004). La quantité ou la qualité du dépôt de pollen peut être positivement associé au nombre de visites reçues (Engel & Irwin, 2003). Ainsi, la taille de la vitrine florale ou la qualité des récompenses pourraient influencer le succès reproducteur d'une plante entomophile en modulant la quantité de visites qu'elle reçoit. C'est ce qu'a notamment démontré un ensemble d'études réalisées dans le contexte d'espèces entomophiles invasives. La présence d'une

espèce exotique plus attractive (taille des fleurs, vitrine florale) en focalisant les visites des pollinisateurs, entraîne chez de nombreuses espèces natives une diminution de leur succès reproducteur (Brown & Mitchell, 2001 ; Muñoz & Cavieres, 2008 ; Kandori *et al.*, 2009). Par ailleurs, outre le nombre de visite, la diversité des visites peut également avoir un effet positif sur le succès reproducteur (Klein *et al.*, 2003 ; Albrecht *et al.*, 2012).

2.6 Modification de l'attractivité aux pollinisateurs : importance de la composition de la communauté végétales et de la disponibilité des ressources.

Si chaque plante développe une attractivité individuelle, cette attractivité devient relative lorsque différentes espèces se trouvent dans une même communauté. D'une part, si la quantité de visites sur une plante dépend de sa vitrine florale, alors deux plantes ayant des vitrines florales de taille différentes ne recevront pas le même nombre de visites. Par ailleurs, comme nous l'avons vu dans la partie 2.3, les pollinisateurs peuvent avoir des préférences. L'attractivité d'un signal visuel ou olfactif émis par une plante repose sur la capacité du pollinisateur à le discriminer et à l'interpréter. Ainsi certaines plantes seront plus attractives pour certains groupes de pollinisateurs. L'attractivité d'une plante peut notamment dépendre de l'attractivité des plantes voisines qu'elles appartiennent à la même espèce (Toräng *et al.*, 2006) ou à d'autres espèces (Laverty, 1992 ; Moeller, 2004). La présence d'espèces ayant des morphologies proches (Moeller, 2004) ou distinctes (Lazaro *et al.*, 2009) peut favoriser l'attraction de pollinisateurs. Ainsi il existerait des relations de facilitation entre plantes via le partage de pollinisateurs (Moeller, 2004, Michalet *et al.*, 2015). Mais dans certains contextes, une modification de l'attractivité relative peut avoir des conséquences négatives sur ses interactions avec des pollinisateurs. Dans le contexte d'introductions biologiques plusieurs études ont notamment démontré que la présence d'une espèce produisant de nombreuses fleurs, des fleurs de grande taille et/ou de grandes quantités de nectar attiraient préférentiellement les pollinisateurs au détriment des espèces natives (Brown & Mitchell, 2002 ; Muñoz & Cavieres, 2008 ; Kandori *et al.*, 2009). Cette baisse d'attractivité peut par la suite influencer le succès reproducteur de la plante la moins attractive (Brown & Mitchell, 2002 ; Muñoz & Cavieres, 2008 ; Kandori *et al.*, 2009). Il existerait ainsi une compétition entre plantes pour les pollinisateurs, ressources biotiques essentielles pour la reproduction des plantes entomophiles. Dans certains cas, en revanche, cette présence peut être positive, l'espèce plus attractive attirant des pollinisateurs dans des parcelles qui n'auraient reçu que

peu de visites (“magnet effect”) (Lavery, 1992 ; Molina-Montenegro *et al.*, 2008). La nature des interactions entre espèces végétales induites par la présence d’une espèce attractive (compétition ou facilitation) dépendrait notamment de sa densité au sein d’une communauté (Seifan *et al.*, 2014). Que l’effet soit positif ou négatif, la composition de la communauté végétale et donc de l’environnement biotique peut moduler l’attractivité d’une plante aux pollinisateurs. De même, l’attractivité d’une plante aux pollinisateurs peut être sensible à des modifications de l’environnement abiotique et notamment des ressources du sol. En effet plusieurs études ont mis en évidence que l’ajout de nutriments dans le sol via l’utilisation de fertilisant (Gardener & Gillman, 2001b ; Burkle & Irwin, 2009, 2010 ; Muñoz *et al.* 2005, Soper-Gorden & Adler, 2013), de litière (Baude *et al.*, 2011), de compost (Cardoza *et al.*, 2012) ou encore l’irrigation (Petanidou *et al.*, 1999) peuvent induire une augmentation de la production de fleurs et/ou de récompenses (voir Tableau 1). Il a même été récemment démontré que les dépôts azotés issus d’activités anthropiques pouvaient influencer de manière positive le nombre de fleur, leur diamètre et de manière négative le ratio de certains sucres dans le nectar (Hoover *et al.*, 2012). Ces modifications d’attractivité peuvent par ailleurs influencer le nombre de visite des pollinisateurs (Muñoz *et al.*, 2005).

Au cours de cette deuxième partie, nous avons abordé les interactions plantes-pollinisateurs dans leur diversité et complexité. Essentielles pour la reproduction d’une majorité d’espèces végétales, ses interactions sont néanmoins sensibles à des variations de leur environnement biotique et abiotique. La compétition interspécifique 1) jouant également un rôle majeur dans la structure et le maintien des communautés végétales, et 2) pouvant moduler la disponibilité des ressources dans le milieu, nous pouvons nous demander si elle est susceptible d’influencer les interactions plante-pollinisateurs

Tableau 1 : Tableau récapitulatif un ensemble de travaux ayant étudié l'effet de l'augmentation de la disponibilité des ressources sur les traits floraux, nectar et pollen de différentes espèces végétales (tiré de Baude 2009)

			Fleurs			Nectar		Pollen	
			nombre fleurs	taille fleurs	date floraison	volume [sucres]	qté sucres [AA]	qté AA	qté qualité
Zimmerman	1983	<i>Delphinium nelsonii</i>				↗			
Zimmerman & Pyke	1988	<i>Polemonium foliosissimum</i>				↗			
Wyatt et al.	1992	<i>Asclepias syriaca</i>				↗	↗		
Wyatt et al.	1992	<i>Asclepias exaltata</i>				↗	↗		
Campbell & Halama	1993	<i>Ipomopsis aggregata</i>	→	→		→	→		
Boose et al.	1997	<i>Epibolium canum</i>				↗			
Leiss & Klimkhamer	2005	<i>Echium vulgare</i>				↗			
Crone & Lesica	2006	<i>Astragalus scaphoides</i>	→		→				
Burkle & Irwin	2009	<i>Ipomopsis aggregata</i>	→	→	↗	→			
Burkle & Irwin	2009	<i>Linum lewisii</i>	→	→		→			
Campbell & Halama	1993	<i>Ipomopsis aggregata</i>	↗	→		→	↗		↗
Lau & Stephensen	1993	<i>Cucurbita pepo</i>							
Juenger & Bergelson	1997	<i>Ipomopsis aggregata</i>	↗		→				
Gardener & Gillman	2001	<i>Agrostemma githago</i>						↗	
Muñoz et al.	2005	<i>Chiquiraga oppositifolia</i>	↗	→					
Burkle & Irwin	2009	<i>Ipomopsis aggregata</i>	↗	↗	↗	↗			
Burkle & Irwin	2009	<i>Linum lewisii</i>	→	→	↗	→			

3. La compétition interspécifique dans les communautés végétales et ses effets sur les interactions plantes-pollinisateurs ?

Dans cette troisième partie nous nous intéresserons à la compétition interspécifique au sein des communautés de plantes, plus particulièrement pour les ressources du sol. Nous verrons quelles en sont les principales caractéristiques et les mécanismes, puis nous évoquerons ses conséquences sur la croissance et la reproduction des plantes, soulevant ainsi la question de son rôle au sein des interactions plantes-pollinisateurs.

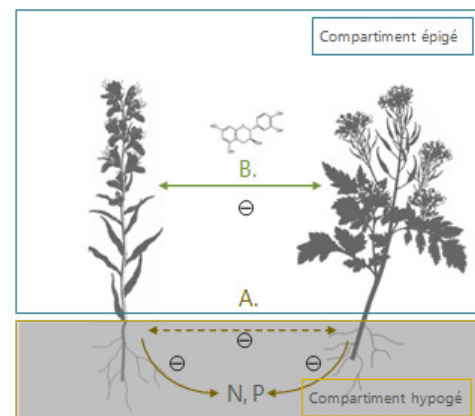
3.1 La compétition entre plantes : définition et généralités

Les interactions de compétition pour les ressources sont d'une importance majeure dans les communautés naturelles (Begon *et al.*, 2006) et particulièrement chez les plantes. Cette affirmation est notamment illustrée par les travaux de Tansley en 1917 qui a montré qu'une espèce de plante pouvait en exclure une autre et que l'espèce exclue pouvait dépendre du type de sol. Bien qu'il existe une grande variété de définition de la compétition entre plantes (Trinder *et al.*, 2013), nous nous baserons sur celle proposée par Begon *et al.* (1996, 2006) et reprise dans la littérature (Grace, 1990, Weigelt & Jolliffe, 2003). Ainsi la compétition pour les ressources est « une interaction entre individus amenée par le partage d'une ressource présente en quantité limitante et conduisant à la réduction de la survie, de la croissance et/ ou de la capacité à se reproduire d'au moins un de ces individus ». Cette définition est valable pour les interactions de compétition intra- et interspécifique et sous-entend que l'issue de la compétition peut ne pas être négative pour

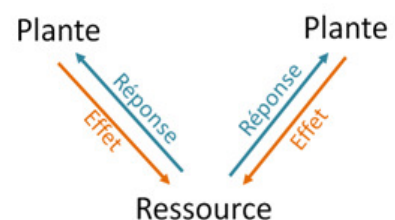
Box 4 : La compétition au sein des communautés végétales

Les différents types de compétition

A : compétition par exploitation (Ex : nutriments)
B : compétition par interférence



Modèle de compétition adapté de Goldberg 1990



l'un des deux partenaires. Dans la suite de ce travail nous nous concentrerons sur les interactions de compétition entre espèces. Il existe deux grands types de compétition selon que les espèces entrent directement ou indirectement en compétition pour la ressource. Il s'agit respectivement de la compétition par interférence et de la compétition par exploitation (voir Box 4). Parmi les formes de compétition par interférence nous pouvons notamment citer l'allélopathie qui consiste en la production de molécules inhibitrices par une espèce à l'encontre d'une autre pour en réduire l'accès aux ressources (de Kroon *et al.*, 2003 ; Schenk, 2006). Dans le cas de la compétition par exploitation, chacune des espèces en compétition répond à un niveau de ressource diminué par la présence d'une autre espèce. En ce sens on peut alors distinguer l'effet d'un compétiteur sur la quantité de ressources et la réponse des autres espèces à ce changement (Goldberg, 1990, voir Box 4). A noter que la notion de ressources peut faire référence à des facteurs abiotiques, tels que ceux sur lesquels nous nous focaliserons par la suite (eau, nutriments ou encore lumière) mais des facteurs biotiques (pollinisateurs, champignons mycorhiziens) peuvent également être au centre d'interactions de compétition en tant que ressources. Au sein des communautés végétales, la compétition peut avoir lieu pour les ressources épigées au niveau d'organes aériens (lumière, espace) et/ou hypogées au niveau d'organes souterrains (nutriments, eau, espace). Si l'intensité de la compétition varie le long d'un gradient de fertilité, l'importance relative de ses composantes aériennes et racinaires dépend de la disponibilité en ressources aériennes et souterraines. Une récente méta-analyse, focalisée sur la compétition dans les systèmes prairiaux, a ainsi montré que la compétition pour les ressources du sol était généralement plus importante que la compétition aérienne (Kiaer *et al.*, 2013). Ainsi, nous nous focaliserons sur les interactions de compétition entre plantes pour les ressources du sol.

3.2. Mécanismes de la compétition par exploitation pour les ressources du sol

3.2 a) Prélèvement des ressources par les plantes et conséquences sur le sol

Dans le sol, les plantes sont en compétition principalement pour l'eau, l'azote et la phosphore, éléments généralement les plus limitants de la production primaire des communautés végétales (Aerts & Chapin, 2000). Leurs quantités dans le milieu sont fortement dépendantes des conditions climatiques, des événements météorologiques (pluies, sécheresses), des paramètres édaphiques et des interactions biotiques (Gurevitch *et al.*, 2006). Avant d'aborder

les mécanismes de la compétition par exploitation, il est important de s'intéresser aux ressources en elle-même et à la manière dont les plantes les prélèvent dans un sol. Du fait de leur immobilité, les plantes ne peuvent prélever des ressources qu'à la surface de leurs racines. Ainsi, si une petite part des ressources peut être acquise directement par interception (c'est à dire que les ressources sont prélevées à mesure que la racine s'agrandit), la grande majorité des ressources se trouve prélevée par le biais de processus physiques contribuant à déplacer les ressources vers les surfaces d'absorption (Casper & Jackson, 1997). Ainsi, le prélèvement de l'eau au niveau des surfaces racinaires conduit à la création d'un flux d'eau du sol vers les racines. Ce flux contribue à l'alimentation hydrique de la plante mais également à une part de la nutrition minérale lorsque les nutriments se trouvent dissous dans l'eau du sol (Casper & Jackson, 1997 ; Aerts & Chapin, 2000). De manière similaire, l'abaissement de la concentration en nutriments contre les surfaces racinaires crée un gradient de concentration conduisant à la création d'un flux de nutriments du sol vers les racines (Marschner, 1995). Bien que tous ces différents processus agissent de manière combinée, l'acquisition des nutriments se fait principalement par diffusion (Aerts & Chapin, 2000). D'autres mécanismes, comme la préemption de ressources par l'espèce compétitive, ont également été proposés (Craine *et al.*, 2005a). La quantité de ressources prélevée par une plante dépend donc de sa capacité d'absorption par unité de biomasse racinaire (i.e., sa capacité à abaisser la concentration à la surface des racines), de sa biomasse racinaire (i.e., qui définit la surface totale d'absorption de la plante) ainsi que de la mobilité des ressources considérées (Aerts & Chapin, 2000). Par ailleurs, ces changements de concentration en ressources autour des racines conduisent au développement de la rhizosphère, définie comme la zone du sol sous l'influence des plantes et partagées avec les microorganismes (Hinsinger *et al.*, 2009).

3.2 b) Interactions entre plantes pour l'acquisition des ressources

Sur la base des travaux de Mac Arthur (1972), Tilman (1980) a proposé qu'un mécanisme de la compétition serait lié à l'abaissement de la concentration en ressource du sol par les plantes. En effet, en prélevant des nutriments du sol, les plantes abaissent leur concentration dans le sol. Des plantes ayant des capacités de prélèvement différentes conduiraient ainsi à des concentrations en nutriments différentes en deçà de laquelle elles ne pourraient persister. Ainsi, l'espèce qui, dans une communauté pourrait diminuer la concentration moyenne d'une ressource à son niveau le plus bas tout en persistant dans ce milieu devrait exclure les autres espèces présentes. La concentration à laquelle une espèce amène le sol, appelée R^* , serait

alors un indicateur de la compétitivité de cette espèce et l'espèce de la communauté possédant le R^* le plus faible serait plus compétitive (Tilman, 1990). Cependant, la capacité d'une espèce à abaisser la concentration en ressources du sol dépend non seulement de ses propriétés morphologiques et physiologiques, mais également de la mobilité des ressources considérées. Ainsi, si les ressources sont peu mobiles, l'effet du prélèvement sur la concentration moyenne du sol sera fortement limité (Raynaud & Leadley, 2004, Craine *et al.*, 2005a). Cependant, une plante sera d'autant plus capable de priver ses voisines de ressources qu'elle est capable de produire de la biomasse. Ainsi, Grime (1979, 1988) a proposé une caractérisation des capacités de compétition des espèces selon différentes stratégies de développement en distinguant des espèces compétitives (C), des espèces tolérantes au stress (S) et des espèces tolérantes aux perturbations (R). Ces différentes stratégies seraient associées certains traits. En ce qui concerne les espèces compétitives, ces traits sont un taux de croissance rapide et des systèmes aériens et racinaires larges et étendus (Booth *et al.*, 2010). Dans ce cas, la compétitivité d'une espèce s'exprimerait alors par sa capacité à occuper l'espace et à acquérir des ressources.

3.2 c) Compétitivité d'une espèce pour les ressources du sol : quels traits ?

Selon les mécanismes considérés pour expliquer la compétition, la définition de la compétitivité d'une espèce peut varier et donc les traits associés. Pour Tilman, la compétitivité d'une espèce repose sur sa capacité à réduire la concentration d'une ressource jusqu'à un niveau ne permettant pas le maintien des compétiteurs tandis que pour Grime il s'agit d'un ensemble de caractéristiques (cycle de vie pérenne, allocation rapide des ressources, forte plasticité, durée de vie courte des tissus) (Aerts, 1999 ; Aerts & Chapin 2000 ; Craine *et al.*, 2005b). En se basant sur les nombreuses études qui se sont intéressées à la compétitivité des plantes, il semble que cette dernière puisse s'exprimer par une large gamme de traits, variables selon les espèces et les conditions de leur milieu (en terme de ressources, climat) : fort taux de croissance et prolifération rapide des racines (Grime, 1979 ; Hodge, 2004), forte densité de racine (Casper & Jackson, 1997), fort taux d'absorption par unité de surface racinaire (Aerts, 1999), profondeur d'enracinement (Violle *et al.*, 2009), longueur ou biomasse du système racinaire (Cahill & Casper 2000 ; Aerts & Chapin 2000 ; Gurevitch *et al.* 2006, Rajaniemi, 2007). L'ensemble de ces traits favoriserait l'occupation du sol et/ou l'acquisition de nutriments. Une grande quantité de biomasse par exemple représente 1) une plus large surface d'échange entre la plante exerçant ainsi une pression plus forte sur les ressources et 2) un plus grand volume de sol exploré par les racines (Raynaud & Leadley, 2004). Par ailleurs, outre

des traits favorisant l'acquisition des ressources, une meilleure compétitivité peut également s'expliquer par de meilleures capacités de rétention des nutriments (Aerts *et al.*, 1999). Néanmoins, comme le suggère Grime, la plasticité phénotypique, cette capacité à produire différents phénotypes selon les conditions du milieu à partir d'un même génotype, joue un rôle majeur dans la réponse des plantes à la compétition. Bien qu'il existe certains traits intrinsèque à une plante pouvant lui conférer un avantage sans événement de plasticité (fort taux de croissance par exemple), une grande partie des traits cités précédemment sont le résultats d'une plasticité physiologique ou morphologique en réponse à la disponibilité des ressources dans le milieu : modification dans l'allocation de biomasse (Aerts, 1991 ; Fitter, 1994 ; Müller *et al.*, 2000 ; Hermans *et al.*, 2006), modification de l'architecture et de l'arrangement spatial des racines (Fitter, 1994 ; Lopez-Bucio *et al.*, 2003), Ainsi, la capacité à avoir un comportement plastique pourrait être, pour une plante, un trait de compétitivité.

3.3 Quelles conséquences de la compétition entre plantes pour les ressources du sol sur les interactions plantes-pollinisateurs ?

La compétition entre plantes, en modulant la disponibilité des ressources dans le milieu, modifie à la fois la quantité de ressources allouables par une plante aux structures végétatives et reproductrices mais également l'allocation de ses ressources au sein de la plante. Ainsi, il a été démontré que la compétition pour les ressources a un effet négatif sur la croissance et la production de biomasse (Wilson & Tilman, 1993 ; Gurevitch *et al.*, 2006, Kiaer *et al.*, 2013), l'accumulation de biomasse pouvant être largement limitée par une diminution des ressources du sol. En présence d'espèces voisines, l'allocation d'énergie vers les tissus reproducteurs peut être également être modifiée. La reproduction étant un évènement coûteux pour une plante (Obeso, 2002) et en raison d'un accès limité aux ressources par compétition, certaines espèces retardent alors leur floraison (Notzold *et al.*, 1997), d'autres produisent moins de fleurs (Partzsch *et al.* 2011) ou de graines (Aguilar *et al.*, 2001; Weiner, 1988). De même Wilson & Tilman (1993) évoquent le rôle majeur de la disponibilité en ressources du sol sur l'effort reproducteur des plantes. Néanmoins la plupart de ces études n'ont pas replacé ces résultats dans le contexte des interactions plantes-pollinisateurs. C'est Baude *et al.* qui, en 2011, ont pour la première fois démontré que la compétition entre plantes pouvait affecter la production de traits impliqués dans l'attractivité aux pollinisateurs d'une plante entomophile. Dans cette expérience la présence d'une espèce entomophile compétitrice induit une réduction de la

quantité totale de sucre allouée au nectar. Nous avons vu au cours de la partie 2.6 que les traits d'attractivité aux pollinisateurs peuvent être sensibles à des variations de la quantité de ressources dans le milieu, ces modifications pouvant à leur tour influencer les visites des pollinisateurs (Muñoz *et al.*, 2005). Dans le cas de la compétition, la réduction de la disponibilité des ressources du sol par une espèce compétitrice conduirait à la diminution de l'attractivité des plantes entomophiles aux pollinisateurs. Ainsi la disponibilité en nutriment, modulée par la compétition, aurait un effet « bottom up » sur les communautés de pollinisateurs. Néanmoins, la réponse des pollinisateurs à des modifications de traits d'attractivité induites par compétition entre plante n'a pas été encore étudiée à notre connaissance. **Dans ce contexte, nous nous sommes alors demandé si la présence d'espèce anémophiles, très rarement intégrées dans les études sur les réseaux de pollinisation, pouvait avoir une influence sur l'attractivité aux pollinisateurs de plantes entomophiles, et ce à travers des interactions de compétition pour les ressources du sol.**

Après avoir mis en évidence la complexité et la diversité des interactions interspecificques au sein des communautés naturelles, nous avons cherché à souligner l'importance d'une approche intégrative pour les décrire. Dans cet objectif, nous avons souhaité nous intéresser aux plantes, compartiment central des écosystèmes, et plus particulièrement à deux types d'interactions ayant un rôle majeur dans leur maintien au sein des communautés naturelles : la pollinisation et la compétition. Après les avoir décrites, nous avons pu nous demander si la compétition pour les ressources du sol pouvait influencer les interactions de pollinisation. Dans les études s'intéressant aux interactions entre compartiments trophiques, celles qui ont pris en compte également les interactions au sein d'un compartiment sont rares. L'objectif de cette thèse est donc de déterminer si des interactions de compétition au sein d'une communauté végétale peuvent influencer les interactions entre communautés de plantes et de pollinisateurs.

II. Objectifs de la thèse et méthodes générales

1. Objectifs de la thèse

Ce travail de thèse repose sur trois expérimentations qui constituent les principaux chapitres du manuscrit. De manière générale, ces expériences visaient à mieux comprendre les interactions entre communautés végétales et communautés de pollinisateurs. Plus particulièrement, il s'agissait de déterminer si les espèces anémophiles, qui n'interagissent pas directement avec la faune pollinisatrice, peuvent néanmoins moduler les interactions plantes-pollinisateurs par leur présence dans le milieu. La compétition pour l'acquisition des ressources étant une composante majeure de la structuration des communautés de plantes (Tilman, 2012), j'ai cherché à étudier l'effet de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles. Pour atteindre cet objectif, j'ai adopté une démarche allant de l'échelle de la plante à celle de la communauté.

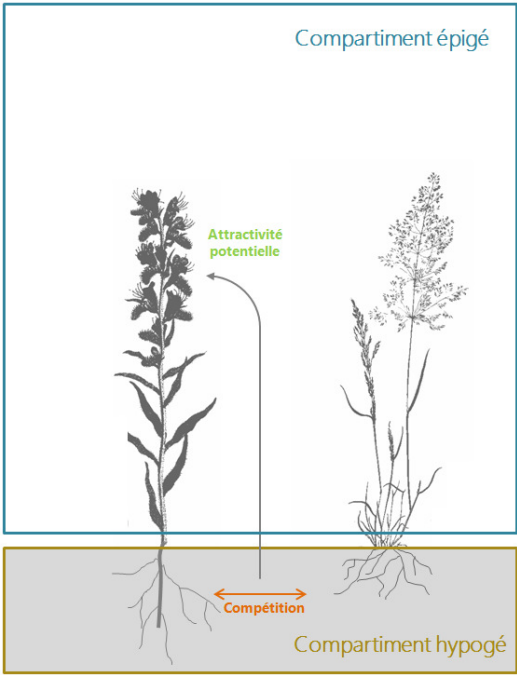
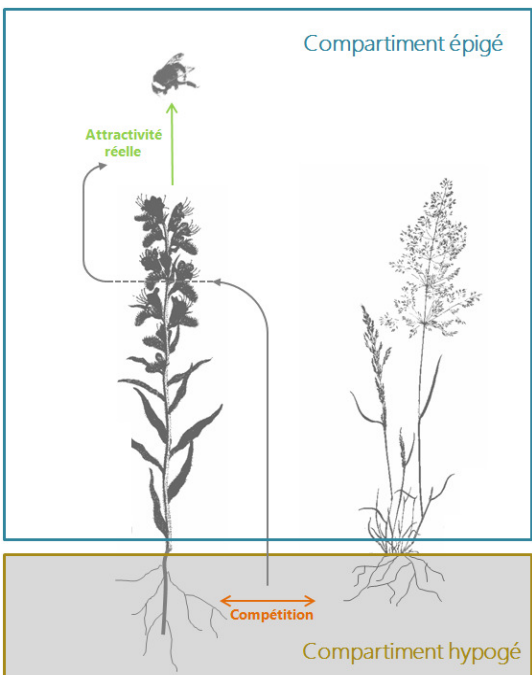
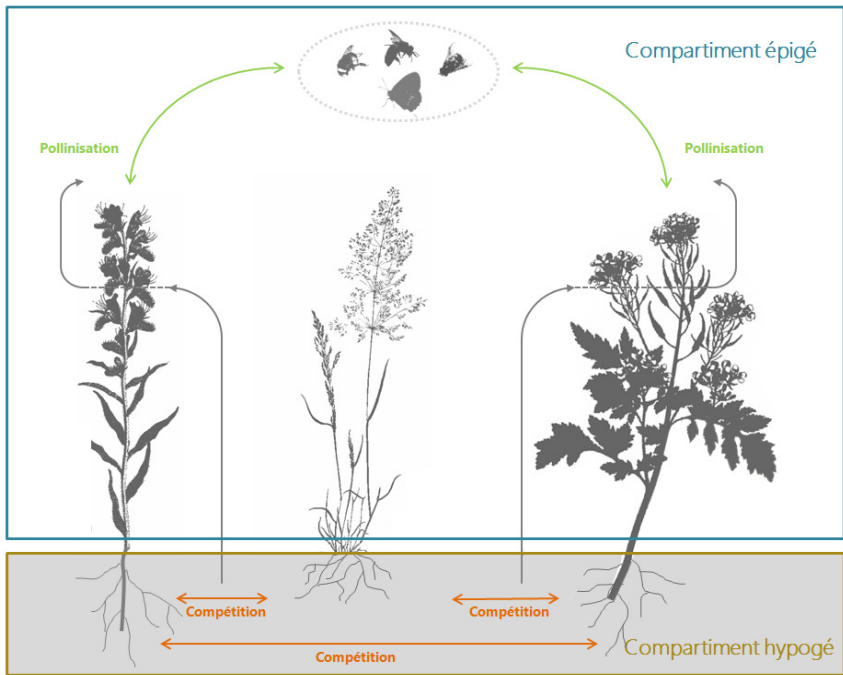
Ainsi, la première expérience, qui s'est déroulée sous serre, s'est concentrée sur la mesure quotidienne de différents paramètres floraux d'intérêt chez 3 espèces entomophiles focales en compétition avec des espèces anémophiles. Ces dernières ont été choisies afin de soumettre les espèces focales à un panel d'interactions compétitives. Cette expérience en pot visait à déterminer 1) si la présence d'une espèce anémophile compétitive pouvait avoir un effet sur la production de traits floraux d'espèces entomophiles (Fig. 1) et 2) si l'importance de cet effet dépendait de la compétitivité de l'espèce anémophile. Cette expérience s'intéressait donc à la réponse individuelle des espèces entomophiles et à leur attractivité potentielle ces plantes n'étant pas présentées à des pollinisateurs (Voir Chapitre 1).

Au cours de la seconde expérience à l'aide d'un dispositif expérimental proche de la première expérience, j'ai examiné l'effet plus particulier de la compétition pour les ressources du sol sur les traits floraux précédemment étudiés et cette fois-ci sur son influence sur le comportement de visite d'un pollinisateur commun, le bourdon terrestre (*Bombus terrestris*) (Fig. 1). Cette expérience réalisée également sous serre, cherchait alors à tester si des modifications d'attractivité potentielle observées à l'échelle de la plante se traduisaient par des modifications du comportement de visite et donc de l'attractivité réelle de la plante entomophile (Voir Chapitre 2).

Enfin, la troisième expérience s'est déroulée en champ, en conditions semi-contrôlées. J'ai cherché à déterminer si la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles (pour les ressources du sol) pouvait influencer le comportement de visite d'une communauté de pollinisateurs sauvages et ce via une modification des traits floraux chez des espèces entomophiles. La communauté de plantes comprenait deux espèces entomophiles focales en mélange avec une espèce anémophile compétitrice. Les espèces entomophiles, de morphologie distinctes, ont été choisies afin d'attirer différents groupes fonctionnels de pollinisateurs selon leurs préférences. Le dispositif expérimental visait initialement à tester 1) si les préférences des pollinisateurs pouvaient être modifiées par le contexte de compétition subi par les plantes entomophiles et 2) si la réponse aux modifications d'attractivité variait selon les pollinisateurs. En fin d'expérience, les fruits ont également été récoltés afin d'estimer les conséquences sur la fécondité des espèces entomophiles. Cette étude avait donc une visée plus globale, l'échelle de la communauté permettant d'étudier l'effet de la compétition entre plantes sur l'attractivité aux pollinisateurs jusqu'à la fonction de pollinisation (Figure 1, voir Chapitre 3).

En cherchant 1) à comprendre les conséquences d'interactions directes et indirectes au sein de communautés et 2) à relier différents compartiments d'un écosystème, ce travail de thèse s'intéresse donc à des questions de recherche fondamentale en Écologie. Il s'intègre également dans des problématiques actuelles plus appliquées (agriculture, conservation) qui tentent de comprendre et palier l'effet de pertes ou d'introductions d'espèces dans les communautés végétales sur les communautés de pollinisateurs.

Figure1 : Schémas récapitulatifs des objectifs et expériences réalisées (les flèches grises représentent « un effet sur », il s'agit des principales hypothèses testées par chacune des expériences)

Expérience 1 (2012)	Expérience 2 (2013)	Expérience 3 (2014)
<p><i>Méthodes</i> : Pots sous serre <i>Pollinisateur(s)</i> : aucun <i>Variables étudiées</i> : Fleurs, nectar</p> <p>(exemple pour un mélange binaire anémophile-entomophile)</p>	<p><i>Méthodes</i> : Pots sous serre, compétition souterraine contrôlée <i>Pollinisateur(s)</i> : <i>B. terrestris</i> <i>Variables étudiées</i> : Fleurs, nectar, visites</p> <p>(exemple pour un mélange binaire anémophile-entomophile)</p>	<p><i>Méthodes</i> : En champs, compétition souterraine contrôlée <i>Pollinisateur(s)</i> : pollinisateurs sauvages <i>Variables étudiées</i> : Fleurs, nectar, visites, fruits/graines</p>
		

2. Méthodes générales

Comme nous l'avons évoqué dans les objectifs, cette thèse se base sur trois expérimentations similaires, au fur et à mesure desquelles, néanmoins, nous avons apporté des degrés de complexité supplémentaire. De ce fait, de nombreux paramètres ont été étudiés de la même manière sur l'ensemble des trois expériences. Afin d'avoir une vision plus globale, l'ensemble de ces mesures sont ici présentées et résumés dans le tableau 2.

2.1. Mesure de l'attractivité d'une plante entomophile aux pollinisateurs.

Dans l'ensemble des trois expérimentations, nous avons fait le choix de nous focaliser sur un ensemble de traits impliqués dans l'attractivité d'une plante aux pollinisateurs. Les fleurs sont les premiers « indices » perçus par un pollinisateur. Certains de leurs traits (nombre, taille) peuvent être annonciateurs de la qualité des ressources florales disponible chez d'une plante (Dafni 1992) favorisant ainsi le nombre de visite reçues par cette plante. Outre cette fonction de « promotion » auprès des pollinisateurs, les fleurs fournissent des récompenses nutritives. Certes, le pollen est une importante source de protéines, mais les besoins énergétiques de la majorité des insectes pollinisateurs reposent sur le nectar, source de glucides (saccharose, glucose et fructose principalement) et dans une quantité moindre, d'acides aminés (Dafni, 1992). La quantité (volume) et la qualité (composition) du nectar sont donc des paramètres essentiels de l'attractivité d'une plante aux pollinisateurs (Cnaani *et al.*, 2006)

Sur ces bases, dans les trois expériences réalisées au cours de cette thèse, des mesures régulières ont été réalisées: la production de fleurs nouvelles, la vitrine florale (ici le nombre total de fleurs ouvertes au même moment), la taille des fleurs ainsi que la production de nectar (volume, concentration et quantité en saccharose).

2.1a) Production de fleurs

La production de fleurs a été suivie quotidiennement dans les 3 expériences. Sur l'ensemble des pieds des espèces entomophiles, les boutons floraux ont été marqués la veille. Le lendemain, les fleurs ayant éclot ont alors été comptées. Ce nombre correspond ainsi au nombre de fleurs nouvellement produites par plante (production de fleur). Par ailleurs la

vitrine florale journalière a également été estimée en comptant le nombre de fleurs ouvertes (nouvelles ou non) par jour pour l'ensemble des plantes entomophiles du dispositif. Parmi les fleurs comptées, des mesures de taille (longueur de la corolle) et de nectar ont été réalisées sur 3 fleurs au maximum.

2.1 b) Production de nectar (quantité et qualité)

Afin d'estimer le volume de nectar produit par fleur par jour, nous avons effectué des prélèvements à l'aide de microcapillaires calibrés de 0,5µL à 1µL (Minicaps end to end, Hirschmann laborgeraete). Le prélèvement consiste à introduire le capillaire dans la corolle de la fleur afin de récolter le nectar produit. Les capillaires étant calibrés en taille et volume, il suffit de mesurer la « longueur » du volume prélevé avec un pied à coulisse pour pouvoir estimer le volume. Afin d'estimer la concentration en saccharose du nectar nous avons utilisé des réfractomètres de poche spécialement conçus pour les petits volumes. Ces instruments permettent de déterminer l'indice de réfraction d'un liquide. L'indice de réfraction du nectar est utilisé comme mesure d'équivalent saccharose car cette méthode ne prend pas en compte la diversité de sucres présents dans le nectar (Kearns & Inouye, 1993). Néanmoins, afin d'être plus concis, nous parlerons par la suite de quantité de saccharose. Les valeurs obtenues sont exprimées en degrés Brix (% B) représentant la fraction d'un composé dans un liquide en gramme de soluté par gramme de solution (ici $\text{g}_{\text{saccharose}} / \text{g}_{\text{nectar}}$). Les mesures de concentration en saccharose du nectar ont été réalisées au plus tard quelques heures suivant le prélèvement. Lorsque nécessaire (pour la lecture au réfractomètre), les échantillons ont été dilués dans de l'eau milliQ (Millipore Corporation). Nous avons ensuite converti ces valeurs en concentration ($\text{g}_{\text{saccharose}} \cdot \text{L}^{-1}$) via un tableau de correspondance (Kearns & Inouye 1993). Les instruments sont calibrés au préalable avec une solution en saccharose de concentration connue à 20°C. Une table de correction est fournie avec les instruments afin de prendre en compte d'éventuelles variations de températures lors de la mesure.

2.1 c) Estimation de l'investissement global d'une plante dans les traits d'attractivité

Nous nous sommes également intéressés à l'investissement d'une plante dans les traits d'attractivité sur l'ensemble de la période de floraison. Pour cela nous avons étudié la production totale de fleurs par plante dans les trois expériences. De même, puisque nous n'avons pas fait de prélèvement sur l'ensemble des fleurs produites par chaque plante

entomophile du dispositif (seulement sur 3 fleurs par plante par jour), nous avons calculé deux indices pour l'ensemble des plantes entomophiles étudiées :

Indice_{volume nectar journalier} : volume moyen de nectar.fleur. jour⁻¹ x production de fleurs. jour⁻¹

Indice_{quantité saccharose journalière} : quantité moyenne de saccharose allouée au nectar.fleur. jour⁻¹ x
production de fleurs. jour⁻¹

Ces indices ont ensuite été sommés sur l'ensemble de la période de floraison pour chaque plante entomophile étudiée :

Indice total_{volume nectar} : Σ Indices_{volume nectar journalier}

Indice total_{quantité saccharose} : Σ Indices_{quantité saccharose journalière}

Ces indices ont été calculés pour les expériences 1 et 2. En revanche pour l'expérience 3, les mesures de taille des fleurs et de nectar ont été faites avant chaque observation, tous les pieds des plantes entomophiles n'étant alors pas échantillonnés tous les jours. De ce fait ces indices n'ont pas été réalisés dans cette expérience.

Par ailleurs d'autres traits propre aux objectifs de chaque expérimentation ont été mesurés (visites, fécondité des plantes focales).

2.2 Mesure des interactions de compétition entre plantes

Afin d'estimer les interactions de compétition entre plantes, nous avons récoltés les biomasses aérienne et racinaire. Ces biomasses ont été récoltées en fin d'expérience

- sur l'ensemble des plantes du dispositif expérimental (espèces entomophiles et espèces anémophiles) dans les expériences 1 et 2
- sur les plantes entomophiles dans l'expérience 3.

Ces mesures de biomasse nous ont permis de calculer un indice d'intensité de compétition, le log Response Ratio (d'après Weigelt & Jolliffe, 2003):

$$\ln RR = \left(\frac{P_{mix}}{P_{control}} \right)$$

avec P_{mix} , biomasse de l'espèce entomophiles en mélange avec l'espèce anémophile et P_{control} , biomasse de l'espèce entomophile en monoculture.

Les valeurs de cet indice sont symétriques autour de zéro. Des valeurs positives indiquent donc un effet positif du compétiteur sur l'espèce focale entomophile alors que des valeurs négatives suggèrent un effet négatif. Cet indice a été calculé dans les expériences 1 et 2 sur les biomasses aériennes, racinaires et totales.

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des mesures faites et méthodes utilisées au cours des trois expérimentations (* mesures non quotidiennes).

Paramètres mesurés	Méthode	Expérience	Expérience 2	Expérience 3
Traits d'attractivité				
Mesures quotidiennes				
Production de fleurs nouvelles / plante	comptage	x	x	x
Écran floral / plante	comptage	x	x	x
Taille des fleurs (mm)	Mesure au pied à coulisse	x	x	x*
Volume de nectar / fleur (L ou µL)	Microcapillaires calibrés 0,5µL-1µL	x	x	x*
Concentration du nectar en saccharose / fleur (g/L)	Réfractométrie	x	x	x*
Indice de quantité de saccharose allouée au nectar / jour / plante (g)	voir « Paramètres étudiés - 1.3 »	x	x	
Indice de volume total de nectar / jour / plante (L ou µL)	voir « Paramètres étudiés - 1.3 »	x	x	
Mesures sur l'ensemble de la floraison				
Production totale de fleur / plante	Somme de la production journalière	x	x	x
Indice de quantité totale de saccharose allouée au nectar / plante (g)	Somme de la quantité journalière	x	x	
Indice de volume total de nectar / plante (L ou µL)	Somme du volume journalier	x	x	
Visites des pollinisateurs				
Temps avant 1e visite	Analyse de survie		x	x
Nombre total de visite	Comptage		x (par pot)	x (par pied et parcelle)
Nombre de visites / séquence	Comptage		x(par pot)	
Diversité des visites	Comptage et indice			x (par parcelle)
Fécondité des plantes entomophiles				
Poids fruits et graine (g)	Pesée (sur poids sec)			x
Nombre de graines / fruit et ratio de fécondité	Comptage			x
Interactions de compétition				
Biomasse aérienne, souterraine, totale / plante	Pesée (sur poids sec)	x	x	x
Log Response Ratio / plante		x	x	

III. Chapitre 1

[...] *Dans un riche parterre où mille et mille fleurs
étaient à l'envi leurs riantes couleurs,
une rose régnait, fière de son calice [...]*

Victor Hugo, La rose

Chapitre 1 - Influence de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur des traits floraux impliqués dans l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles

Présentation du chapitre :

Ce Chapitre 1 se place à l'échelle de la plante. Il cherche à déterminer si la présence d'espèces anémophiles, au travers d'interactions de compétition, peut modifier un ensemble de paramètres floraux impliqués dans l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles : production de fleurs, vitrine florale, taille des fleurs, production de nectar (Fig. 2).

Dans cet objectif, une première expérimentation en serre a été réalisée. Trois espèces entomophiles focales (*E. plantagineum*, *L. purpureum*, annuelles et *L. corniculatus*, pérenne) ont été cultivées dans des pots en mélanges binaires avec des espèces anémophiles compétitrices (*C. album*, *A. capillaris*, *P. lanceolata* et *H. lanatus*). Ces dernières ont été sélectionnées afin de créer un panel d'interactions compétitives. Les traits floraux ont été mesurés quotidiennement sur l'ensemble des plantes focales. Des monocultures ont également été réalisées. A la fin de l'expérience, des mesures de biomasses ont été faites sur l'ensemble des plantes étudiés afin d'estimer l'intensité des interactions de compétition. Via ce protocole expérimental, nous avons cherché à tester les hypothèses suivantes: 1) la présence d'espèces anémophiles a-t-elle un effet négatif sur les traits floraux des espèces entomophiles ? et 2) cet effet est-il d'autant plus fort que l'espèce anémophile est compétitive ?

Les mesures de biomasses chez *E. plantagineum* et *L. purpureum*, associées au calcul d'un indice de compétition (log Response Ratio ; Weigelt & Jolliffe., 2003), ont mis en évidence l'existence d'un gradient d'intensité de compétition: *C. album* < monocultures < *A. capillaris* < *P. lanceolata* < *H. lanatus*. Pour ces deux espèces focales annuelles, nous avons observé une diminution des traits floraux (production totale de fleurs, quantité totale de sucre allouée au nectar, vitrine florale journalière, taille des fleurs) avec l'augmentation de l'intensité de compétition. Les hypothèses de départ sont donc validées.

Ces résultats suggèrent que les espèces anémophiles les plus compétitives ont réduit la disponibilité des ressources (espace, nutriments, eau) au détriment des espèces focales, influençant ainsi leur allocation aux traits floraux. Dans le cas des mélanges avec *C. album*, nous avons observé une augmentation des paramètres floraux étudiés. Cet effet résulterait d'un investissement très faible dans la biomasse chez *C. album* dans cette expérience, les plantes focales ayant probablement eu accès à un pool de ressources plus important qu'en monocultures. En ce qui concerne la troisième espèce focale, *L. corniculatus*, les résultats ne suivent pas le même patron de réponse. Les traits

floraux semblent plus particulièrement affectés en conditions de monoculture. Chez cette espèce, les mesures de biomasse et les indices de compétition ne suggèrent pas de lien entre l'allocation à la biomasse végétative et l'allocation à la biomasse reproductrice, comme cela peut être le cas pour les deux espèces annuelles. La réponse de *L. corniculatus* pourrait donc être plus « adaptative » que « plastique ». Cependant, *L. corniculatus* étant une espèce pérenne, et fixatrice d'azote, il est possible que ces caractéristiques aient joué un rôle dans sa réponse à la compétition. Faute d'avoir pu étudier la réponse d'une autre espèce pérenne, initialement intégrée au protocole expérimental (*Mimulus guttatus*), nous ne pouvons tirer de conclusions précises pour cette espèce.

Les résultats de cette expérience ont fait l'objet d'une publication dans la revue Scientific Reports : **Flacher F, Raynaud X, Hansart A, Motard E, Dajoz I. 2015.** Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species. *Scientific Reports* 5:13345.



Figure 2 : Cadre d'étude du Chapitre 1

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species

Floriane Flacher¹, Xavier Raynaud², Amandine Hansart³, Eric Motard⁴ & Isabelle Dajoz⁴

Received: 09 April 2015

Accepted: 22 July 2015

Published: 03 September 2015

Plant traits related to attractiveness to pollinators (e.g. flowers and nectar) can be sensitive to abiotic or biotic conditions. Soil nutrient availability, as well as interactions among insect-pollinated plants species, can induce changes in flower and nectar production. However, further investigations are needed to determine the impact of interactions between insect-pollinated species and abiotically pollinated species on such floral traits, especially floral rewards. We carried out a pot experiment in which three insect-pollinated plant species were grown in binary mixtures with four wind-pollinated plant species, differing in their competitive ability. Along the flowering period, we measured floral traits of the insect-pollinated species involved in attractiveness to pollinators (*i.e.* floral display size, flower size, daily and total 1) flower production, 2) nectar volume, 3) amount of sucrose allocated to nectar). Final plant biomass was measured to quantify competitive interactions. For two out of three insect-pollinated species, we found that the presence of a wind-pollinated species can negatively impact floral traits involved in attractiveness to pollinators. This effect was stronger with wind-pollinated species that induced stronger competitive interactions. These results stress the importance of studying the whole plant community (and not just the insect-pollinated plant community) when working on plant-pollinator interactions.

A wide array of plant traits are sensitive to environmental conditions, either abiotic and biotic factors and their interplay. Modifications of abiotic resources can induce positive to negative effects on plant vegetative (e.g. plant biomass) and reproductive traits (e.g. flowers, fruits or seeds). For instance, some studies showed that the addition of soil nutrients (e.g. nitrogen or phosphorous) can lead to an increase in plant growth rates or biomass^{1–4}, as well as flower^{3,5–8}, fruit^{6,8,9}, pollen⁹ or seed traits^{6–8}. On the other hand some studies showed that a high level of nitrogen can lead to a decrease in root biomass⁴ while increasing plant growth and flower production⁷. Likewise, litter and compost addition or irrigation can induce intricate plant responses. For instance, litter inputs can induce negative to positive effects on biomass along years¹⁰ as well as species-specific response of floral traits¹¹ just like water addition¹². The effect of resources modifications can also be delayed according to plant life cycles³. These studies suggest that plant response to resources availability can be plastic (the change in phenotype being proportional to changes in environmental conditions) or adaptive with strategies mainly linked to plants' life cycles. Within plant communities, interactions among plant individuals, especially competition between roots systems for water and nutrient acquisition, can lead to changes in the availability of such resources¹³ and to changes in allocation to vegetative or reproductive plant traits^{11,14–16}. Therefore, the composition

¹CNRS, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, INRA IRD, Univ Paris Diderot Paris 7, UPEC, Institute of Ecology and Environmental Sciences - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris France. ²Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, CNRS, INRA IRD, Univ Paris Diderot Paris 7, UPEC, Institute of Ecology and Environmental Sciences - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris France. ³CNRS, UMS 3194 CEREEP-Ecotron Ile de France, F-77140 Saint-Pierre-lès-Nemours. ⁴Univ Paris Diderot Paris 7, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, CNRS, INRA IRD, UPEC, Institute of Ecology and Environmental Sciences - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris France. Correspondence and requests for materials should be addressed to F.F. (email: floriane.flacher@gmail.com)

of plant communities can have strong effects on individual plant traits through competitive interactions for resources.

Variations in plant reproductive traits are especially important in animal-pollinated species because they condition plant-pollinator interactions^{17,18}. Indeed, in insect-pollinated plants, pollinators are attracted to flowers and associated rewards. On the one hand, flowers, varying in their number, size, color or smell, offer an advertising display that induces visits of various pollinators^{17,19}. On the other hand, floral rewards (e.g. nectar, pollen) tend to favor the repetition of visits as they are major components of pollinators' diet by supplying proteins, sugars and amino-acids¹⁷. The quantity and quality of such floral traits involved in pollinator attraction can have strong impacts on pollinator behavior. Indeed, several studies have shown that plant species exhibiting a greater floral display size, (i.e. the total number of opened flowers at a time) or producing numerous, large flowers and/or greater rewards (in quantity or quality) are more visited by pollinators than other present plant species^{20–25}. Various experiments showed that a greater pollinator attractiveness, subsequently to increased floral traits through resource addition, can enhance pollinator visitation^{6–8,26} that may lead to better reproductive success^{6,8}. However, to date, most studies linking changes in soil resources to floral traits and pollinator response considered the impact of nutrient addition while interactions between plants, especially belowground competition, could also be of great importance. In an experiment looking at different floral traits involved in attractiveness, Baude *et al.*¹¹ set up binary mixtures of insect-pollinated plant species and found that floral traits of one focal species depended on the other species present in the mixtures. More precisely, the total nectar sugar content of a focal species decreased when growing in presence of a stronger competitor. Therefore, interactions between insect-pollinated species could influence floral traits involved in pollinator attraction.

Natural plant communities always comprise species with a variety of pollination modes such as animal-pollinated and abiotically pollinated plants, although the latter are almost never taken into account in studies on plant-pollinator networks. However, the flower production of a particular insect-pollinated species can be negatively impacted by competitive interactions induced by a wind-pollinated plant competitor^{15,27}. To our knowledge, the consequences of interactions between insect- and wind-pollinated species on floral traits involved in attractiveness to pollinators still need investigations, especially with more focus on floral rewards.

The objectives of our study were to assess how allocation to several floral traits involved in attractiveness to pollinators (e.g. flower production, flower size and floral rewards) could be affected by the presence of different wind-pollinated species. Especially we wanted to investigate the effect of different intensities of competitive interactions. To do so, we set up a pot experiment in which we grew three insect-pollinated plant species (*Echium plantagineum*, *Lamium purpureum* and *Lotus corniculatus*) in binary mixtures with four wind-pollinated species (*Agrostis capillaris*, *Chenopodium album*, *Holcus lanatus* and *Plantago lanceolata*) so that insect-pollinated species were submitted to a panel of belowground interactions for abiotic resources.

Our hypothesis were that (1) the presence of wind-pollinated competitors should have negative impacts on floral traits of insect-pollinated species and (2) the magnitude of this effect should differ according to different competition intensities induced by the presence of wind-pollinated species.

Results

Intensity of competitive interactions. Mean log response ratios (ln RR²⁸), estimators of competition intensity, are summed up in Table 1. As indicated by ln RR values, the three insect-pollinated focals were submitted to various intensities of competition. *E. plantagineum* and *L. purpureum* followed the same pattern of response. For both species and whatever the biomass measurement (aboveground, belowground or total biomass), ln RR values (as well as focals' biomass) were significantly higher in presence of *C. album*, in opposition to mixtures with *H. lanatus* for which ln RR had the lowest values ($P \leq 0.024$ for both species, Table 1, Supplementary Fig. S1 for biomass). Mixtures with *C. album* even seemed to provide better growth conditions than monocultures of the two focal species with positive values of ln RR (Table 1). For intermediate levels of competition intensity, ln RR values suggest a global pattern where intensity of competition is stronger in mixtures with *A. capillaris* than with *C. album* but weaker than with *P. lanceolata*, the second strongest competitor for *L. purpureum* and *E. plantagineum* (except for ln RR values calculated with belowground biomass of *L. purpureum*, Table 1). According to these results, *L. purpureum* and *E. plantagineum* experienced the following panel of growing intensity of competition:

$$C. album_{\text{mixtures}} < \text{monocultures} < A. capillaris_{\text{mixtures}} < P. lanceolata_{\text{mixtures}} < H. lanatus_{\text{mixtures}}$$

The response of *L. corniculatus* didn't follow the same pattern. Monocultures showed the highest ln RR values among all treatments (Table 1). In consequence, all wind-pollinated species induced negative competitive interactions for this focal species ranging from weak effects in mixture with *C. album* to strong effects in mixture with *P. lanceolata* or *A. capillaris* (Table 1).

As we are mainly interested in the effect of competition intensity induced by wind-pollinated species rather than on competitor identity, the log response ratio (ln RR) has been used as an explanatory variable in the following results. However, because ln RR values were obtained from biomass measurements at

	In RR					F value	p-value
	Monoculture	Mixture <i>H. lanatus</i>	Mixture <i>P. lanceolata</i>	Mixture <i>A. capillaris</i>	Mixture <i>C. album</i>		
<i>E. plantagineum</i>							
Aboveground biomass	0 (+/−0.01)	−1.16 (+/−0.01)	−0.86 (+/−0.01)	−0.60 (+/−0.01)	0.28 (+/−0.01)	F _{4,20} = 54.31	0.001
Belowground biomass	0 (+/−0.04)	−1.96 (+/−0.03)	−1.77 (+/−0.03)	−1.23 (+/−0.04)	0.39 (+/−0.04)	F _{4,20} = 20.73	0.001
Total biomass	0 (+/−0.02)	−1.43 (+/−0.02)	−1.15 (+/−0.02)	−0.82 (+/−0.02)	0.27 (+/−0.02)	F _{4,20} = 46.97	0.001
<i>L. purpureum</i>							
Aboveground biomass	0 (+/−0.02)	−1.00 (+/−0.02)	−0.81 (+/−0.02)	−0.22 (+/−0.02)	0.44 (+/−0.02)	F _{4,20} = 19.08	0.001
Belowground biomass	0 (+/−0.05)	−1.32 (+/−0.04)	−0.86 (+/−0.04)	−1.00 (+/−0.04)	−0.42 (+/−0.04)	F _{4,20} = 3.55	0.024
Total biomass	0 (+/−0.03)	−1.15 (+/−0.02)	−0.88 (+/−0.03)	−0.49 (+/−0.03)	0.19 (+/−0.02)	F _{4,20} = 12.74	0.001
<i>L. corniculatus</i>							
Aboveground biomass	0 (+ −0.01)	0.03 (+/−0.01)	−0.25 (+ −0.01)	0.06 (+/−0.01)	0.03 (+/−0.01)	F _{4,20} = 6.40	0.002
Belowground biomass	0 (+/−0.03)	−0.47 (+/−0.03)	−0.74 (+/−0.03)	−1.02 (+/−0.02)	−0.21 (+/−0.03)	F _{4,20} = 6.75	0.001
Total biomass	0 (+ −0.02)	−0.13 (+/−0.02)	−0.41 (+/−0.01)	−0.26 (+/−0.02)	−0.07 (+/−0.01)	F _{4,20} = 6.39	0.002

Table 1. Mean In RR values (+/- standard error) per treatment for *E. plantagineum*, *L. purpureum* and *L. corniculatus* in monocultures and mixtures with the wind-pollinated competitors. For each insect-pollinated focal, p-values indicate significant differences between treatments (ANOVA, *E. plantagineum* N = 1125, *L. purpureum* N = 1125, *L. corniculatus* N = 1125).

the end of the experiment, we used In RR (calculated from total biomass, see in Methods) as an explanatory variable only for total floral traits (i.e. summed at the end of the experiment, see Flower traits, Nectar traits and Data analysis sections in Methods). We kept the competitor identity as an explanatory variable for daily floral traits see Flower traits, Nectar traits and Data analysis sections in Methods). Therefore, in the following results, 'competition intensity' will equally refer to 1) In RR values, 2) the presence of a particular competitor in the mixture with the focal species. An increase in competition intensity can thus mean a decrease in In RR values or the presence of stronger competitors. For the sake of clarity, the results for daily floral traits will be ordered along the above panel for the three focal species, even if the pattern of response was different for *L. corniculatus*.

Flower traits. At the end of the experiment, a total of 807, 2053 and 1075 flowers were sampled for *E. plantagineum*, *L. purpureum*, and *L. corniculatus*, respectively. For *E. plantagineum* and *L. purpureum* there was a significant effect of competition leading to a decrease of floral display size, daily flower production (not shown) and total flower production (total number of flower produced at the end of the flowering period, see Methods) when competition intensity increased. Indeed, floral display size and daily flower production tended to be greater in presence of *C. album* (even greater than in monocultures; although not significant) while the presence of stronger competitors, such as *H. lanatus*, induced a strong decrease in both traits (Fig. 1 for floral display size, the daily flower production followed the same pattern). Likewise, for both species, the total flower production decrease as In RR values decrease, suggesting lower total flower production in condition of stronger competitive interactions ($P < 0.001$ Supplementary information Fig. S2). For *L. corniculatus*, there was also a significant effect of the competition treatment. Especially, floral display size and daily flower production were greater in presence of *C. album* (Fig. 1 for floral display size, the daily flower production followed the same pattern). However, both traits tended to be lower in monocultures (Fig. 1 for floral display size, the daily flower production followed the same pattern). On the other hand, the total flower production decreased according to In RR values ($P < 0.001$, Supplementary information Fig. S2). For all three species, there were significant effects of the date (for the floral display size only, all $P < 0.001$) and of the interaction terms for both floral display size and daily flower production (all $P < 0.001$).

For all three focal species, flower size was affected by the competition treatment (*E. plantagineum*: $F_{4,772} = 7.35$, $P < 0.001$, *L. purpureum*: $F_{1,1936} = 8.96$, $P < 0.001$; *L. corniculatus*: $F_{4,1036} = 4.69$, $P < 0.001$, Supplementary information Fig. S3). Plants of *E. plantagineum* and *L. purpureum* produced smaller flowers as competition intensifies. For *L. corniculatus*, monocultures and mixtures with *C. album* produced the smallest flowers (see Supplementary information Fig. S3). For flower size, there was also a significant effect of the date for all three species (all $P \leq 0.008$).

Nectar traits. There was no significant effect of the competition treatment on the daily concentration of nectar per flower and the daily volume of nectar per flower for both *E. plantagineum* and *L. corniculatus* ($P > 0.05$). *L. purpureum*, however, was significantly affected by the presence of stronger competitors

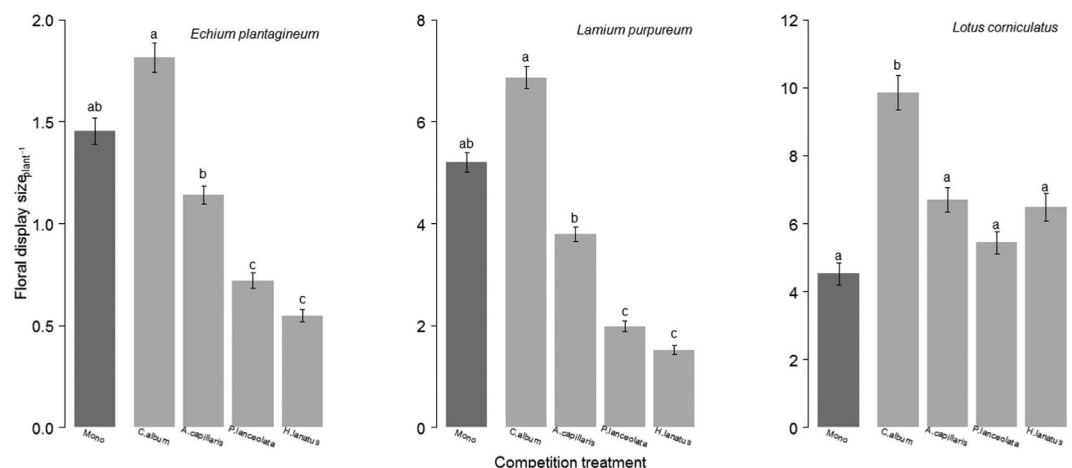


Figure 1. Mean (\pm standard error) floral display size per plant of *E. plantagineum*, *L. purpureum*, and *L. corniculatus* in mixture with the competitors. “Mono” refers to monocultures of the focal species. Wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results). Different letters indicate significant differences (i.e. $P \leq 0.006$ for *E. plantagineum*, $P \leq 0.001$ for *L. purpureum* and $P \leq 0.040$ for *L. corniculatus*) after pairwise comparisons (Tukey⁵⁷) and adjustment of p-values (Holm method⁵⁶).

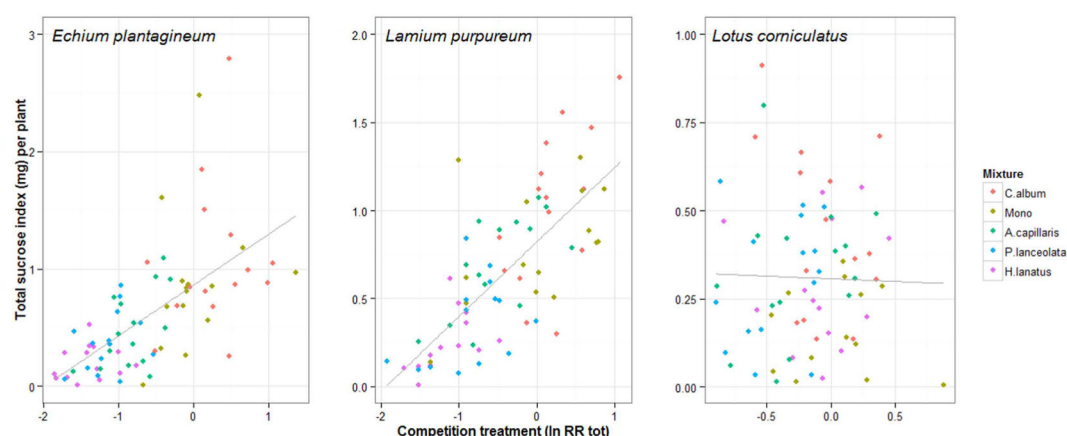


Figure 2. Linear regression between the total sucrose index (mg per plant) and mean ln RR values per plant calculated from total biomass ($P < 0.001$ with transformed data, for *E. plantagineum* ($R^2 = 0.44$) and *L. purpureum* ($R^2 = 0.57$) only). The grey line corresponds to the estimated model while dots represent the data. Ln RR values are associated to mixtures in the legend.

for both variables ($F_{4,1450} = 2.53$, $P = 0.04$ for the daily concentration and $F_{4,1648} = 4.47$, $P = 0.001$ for the daily nectar volume).

As the daily flower production was affected by the competition treatment, the daily sucrose index of nectar (taking into account all produced flowers per day and not only sampled flowers, see Methods) decreased in presence of strongest competitors for both *E. plantagineum* and *L. purpureum* ($F_{4,194} = 13.36$, $P < 0.001$ and $F_{4,731} = 5.52$, $P < 0.001$ respectively). Therefore, the daily allocation of sucrose to nectar was lower when competition intensified. The same pattern was clearly observed for the total allocation of sucrose to nectar. Indeed, the total sucrose index at the end of the flowering period tended to decrease with ln RR values (*E. plantagineum* $F_{1,47} = 57.04$, $P < 0.001$, *L. purpureum*: $F_{1,48} = 83.81$, $P < 0.001$; Fig. 2, see Methods). We found the same pattern for daily (*E. plantagineum* $F_{4,199} = 9.38$, $P < 0.001$; *L. purpureum* $F_{4,800} = 8.05$, $P < 0.001$) and total volume index ($F_{1,46} = 30.71$, $P < 0.001$, $F_{1,48} = 102.74$ $P < 0.001$ respectively). For *L. corniculatus*, the daily sucrose index and the daily volume index were significantly affected by the competition treatment ($F_{4,255} = 3.48$, $P = 0.009$ and $F_{4,254} = 3.47$, $P = 0.009$ respectively) with lower values in monocultures. However both index of nectar were not affected by increasing competition intensity (both $P > 0.05$, see Fig. 2 for total sucrose index). There were significant effects of the date for the daily concentration of nectar ($P \leq 0.02$ for *E. plantagineum* and *L. purpureum*) and the daily nectar

volume (*L. purpureum* only $P < 0.001$). There was a significant effect of the interaction term (competition:date) for the daily nectar volume (for *E. plantagineum* and *L. corniculatus*, all $P \leq 0.01$). For both daily index, there were significant effects of the date (for *L. purpureum* only, $P < 0.001$) and of the interaction term (competition:date) (for *E. plantagineum* and *L. corniculatus*, all $P \leq 0.002$).

Discussion

Literature data have mostly focused on the relations between plant attractiveness to pollinators and abiotic conditions and suggest that response of attractiveness traits is complex and species-specific as positive, neutral and negative effects have been reported for the effects of water or nutrient addition on flower production^{3,7,11,12}. Because competitive interactions between plants can translate into changes in resources availability between competitors^{13,29}, we studied their impact on floral traits of three insect-pollinated species. Moreover, we focused on wind-pollinated species as competitors in order to see how species that do not interact with pollinators for their reproduction could alter attractiveness traits of animal-pollinated focal species.

As expected, competition with wind-pollinated species affected plant biomasses and floral traits for all three investigated insect-pollinated species. Especially, we found that the stronger the competitive interaction was (i.e., high \ln RR values), the stronger the impact on floral traits.

Differences in biomass allocation patterns, especially belowground, can suggest different competitive abilities in plants²⁹. Indices of competition, such as the log response ratio (\ln RR) are frequently used as they are good tools for summarizing and interpreting competitive interactions between plant species²⁸. Here, the \ln RR values obtained for each mixture indicate that the wind-pollinated competitors exposed the insect-pollinated focals to different competition intensities. These \ln RR values also suggest that the two annual species of our experiment, *L. purpureum* and *E. plantagineum*, faced a similar panel of growing intensity of competition, with *C. album* being a weaker competitor, *A. capillaris* an average competitor and *P. lanceolata* and *H. lanatus* being stronger competitors. Measures of competitors' biomass grown in mixtures with *L. purpureum* or *E. plantagineum* could explain these differences. Indeed, in these mixtures, plants of *H. lanatus* produced the greatest biomass among the four competitor species. Even though greater biomasses, especially greater root systems, are not always associated with greater competitive abilities³⁰, larger root systems can be related to greater soil space occupation³¹ and/or greater resource uptake²⁹ thus limiting access to resources for neighbouring plants. Likewise larger individual plants can induce stronger effects on target plants than smaller ones³². Here, *H. lanatus* is a strong competitor (so, with high competitive abilities) because its presence (its biomass) probably led to a strong limitation of the biomass production of the two focal species (lower \ln RR values) through strong space occupation and/or greater nutrient depletion. In contrast, *C. album* individuals tended to have a positive effect on the biomass of these two focal species. Facilitative interactions between plants can be observed through modifications of soil components (e.g. moisture, nutrients)³³ or enhancement of seedling establishment. However here, the positive effect of *C. album* may probably be due to low biomass production rather than facilitation. This may have favoured greater space/nutrient exploitation by the two focal species, and thus higher allocation to biomass than in the other treatments (including focals monocultures). So in this study, we consider that the competitive abilities of plant species are more a consequence of their biomass production (even if biomass production can also result from higher competitive abilities). In the case of *L. corniculatus*, response patterns were different. Mixture with *C. album* apart, *H. lanatus* behaved as an intermediate competitor in spite of its important biomass production (especially root biomass). Moreover, even though the range of \ln RR values was narrower for this species (compared to *L. purpureum* for example), all wind-pollinated species had a small negative effect on *L. corniculatus*, compared to monocultures, and the strongest competitors were *P. lanceolata* and *A. capillaris*. However, biomass measurements indicate that only *L. corniculatus* belowground biomass was altered by the presence of a competitor and aboveground biomass was unaffected (see Supplementary information Fig. S1). Some characteristics of *L. corniculatus* could have mediated this different response to competition compared to the two other species. First, *L. corniculatus* is a legume species and, although we did not quantify them, *L. corniculatus* roots showed nodules, indicating that nitrogen fixation did occur in our experiment. *L. corniculatus* could thus have accessed to the atmospheric N pool³⁴ so that it was only slightly affected by competition compared to the two other species. Furthermore, *L. corniculatus* has a perennial life cycle that can induce a different timing of response to competition as well as different allocation patterns compared to plants having annual life cycles^{3,35}. Initially, the experimental design contained a second perennial plant, *Mimulus guttatus* DC. (synonym *Erythranthe guttata* (Fisch. ex DC.) G.L. Nesom; see Supplementary Table S1), that might have provided elements to disentangle the respective roles of perennial life cycle and nitrogen fixation in *L. corniculatus*. Unfortunately, only 15 out of 75 *Mimulus guttatus* plants flowered, and half of the flowers (25/49 total flowers) were produced by only two plants. As a consequence we decided not to include this species in this work.

Moreover, we should keep in mind that these conclusions rely on final harvests of biomass when some studies suggest regular harvest along experiments to better assess the dynamics of competitive interactions³⁶.

Most of the floral traits measured in this experiment were affected by the competition treatment. Higher conditions of competition (lower \ln RR values induced by the presence of *H. lanatus*) had the greatest impact on *E. plantagineum* and *L. purpureum*, by reducing flower and reward traits. To date,

studies that have looked for links between attractiveness traits and environmental conditions have mostly focused on the effects of abiotic conditions and showed a sensitivity of attractiveness traits to nutrients and water availability^{3,6,9,12} or litter and compost additions to soil^{11,26}. If modifications of abiotic conditions can alter species attractiveness to pollinators, it is not surprising that biotic interactions such as competition, that mediate abiotic resources availability, have similar effects¹⁵. Flower and nectar production can be relatively costly for a single plant^{37–39} so that allocation to reproductive structures might be modified in a context of competition with limited access to nutrients. Here, the lowest ln RR values, calculated from mixtures in presence of *H. lanatus*, suggest that this species may have reduced the availability of soil resources to *E. plantagineum* and *L. purpureum* and thus daily as well as total allocation of plants to floral traits. Overall, this could be responsible for lower resources allocation to reproductive traits. Conversely, *C. album*, led to higher flower and nectar production than in monocultures. A greater resources availability or space, due to the reduced biomass of the competitor might have led to better growing conditions for the insect-pollinated species, resulting in better resource acquisition (as confirmed by higher ln RR values) and increased allocation to reproductive structures.

In the case of *L. corniculatus*, while ln RR values suggest stronger competition (albeit limited) in presence of wind-pollinated species compared to monoculture, some floral traits were lowest in monoculture and in mixtures with *P. lanceolata* (which is the strongest competitor for *L. corniculatus* based on ln RR values) compared to the other mixtures. This suggests that, in contrast to the two other insect-pollinated species, allocation to reproduction was not related to biomass allocation. In Wurst & Van Beersum⁴⁰, monocultures of *L. corniculatus* can have higher biomass and produce more flowers than in mixture with *H. lanatus*, which is not in accordance with the observed pattern here. Considering the cost of N₂ fixation suggested in some studies (in term of C allocation to symbiont⁴¹), plants in monocultures in our experiment might have allocated less photosynthetates to floral traits leading to the observed decrease in monocultures. However, the study of floral traits per unit of biomass (total floral traits divided by the final biomass) revealed that *L. corniculatus* might have a more adaptive response to competition while the two other focal species might have a 'purely' plastic response to resource availability. Indeed, for *L. corniculatus*, floral traits per unit of biomass tend to be higher when competition intensity increases, showing a possible strategy to better attract pollinator in condition of competition. However, as we only have biomass data at the end of the experiment (and a final biomass can not only be considered as a sum of biomass like for total produced flowers, for instance), we believe that further investigations are needed to conclude on these effects.

Here we focused on flower and nectar production while other attractiveness traits could also be affected by competitive interactions. For example, plant pigments or volatile compounds involved in flower colours⁴² and scents, relative amounts of different sugars or amino-acids content in nectar^{12,43} and pollen quantity and or quality⁹, are all sensitive to resource variations, and could be affected by competitive interactions. Even though we observed a negative impact of competition on some floral traits involved in attractiveness to pollinators, the response of floral traits can be complex and species-specific^{3,11,12}. Moreover, we interpret our results in a context of exploitative competition through soil resources depletion while other competitive mechanisms (e.g. interference through allelochemicals)^{13,29} could conjointly influence plant response. As ln RR values did not differ among total or belowground biomass and root competition is often stronger than shoot competition (especially with grass competitors⁴⁴), our results are mainly interpreted in a context of belowground competition. However further investigations are needed to better assess the overall impact of plant competition (aboveground as well as belowground) on floral traits involved in attractiveness to pollinators.

Variations in attractiveness traits are known to strongly impact pollinator visitation patterns and on a larger scale pollination service. Indeed, greater plant attractiveness can enhance the frequency or number of flower visits: most pollinators are preferentially attracted to plants producing numerous, large flowers and/or greater rewards (in quality or quantity)^{20–25,45}. Larger floral display size can also influence the abundance of visiting pollinators⁴⁶. Likewise, the pattern of pollinator visits per plant can be correlated to the total nectar production per plant⁴⁷. However, many flowering plants are pollen limited, therefore an increase in pollination intensity (e.g. a greater pollen deposit on stigmas) can enhance plant fecundity (i.e. greater fruit and/or seed set)⁴⁸. As a consequence, our results suggest that a decrease in floral traits involved in pollinator attractiveness due to plant competition could have negative impacts on pollinator visits, reducing plant reproductive success. However further experiments are needed to test such hypothesis. Nevertheless, this study emphasises the importance of 1) taking into account species other than insect-pollinated ones in plant-pollinator network studies, and 2) linking above ground and below ground interactions to better understand plant-pollinator networks. This is in concordance with some research initiated on the impact of soil micro-organisms on pollinator visits through variations of floral traits^{49,50}. Given our results, future research is needed on plant-soil or plant-plant interactions that may lead to modifications of floral traits involved in attractiveness to pollinators.

Methods

Our objectives were to study how attractiveness traits of insect-pollinated plants are affected by the presence of neighbouring wind-pollinated plant species. To do so, we set up a greenhouse experiment in which we grew seven plant species in binary mixtures in pots.

Plant species. Seven plant species (3 insect-pollinated plants and 4 wind-pollinated plants) with close ecological preferences (based on Ellenberg index for British Plants⁵¹) were selected: *Echium plantagineum* L., *Lamium purpureum* L., and *Lotus corniculatus* L., for insect-pollinated focals and *Agrostis capillaris* L., *Chenopodium album* L., *Holcus lanatus* L. and *Plantago lanceolata* L. for wind-pollinated competitors (for plant species description, see Supplementary Table S1).

Experimental set-up. In March 2012, seedlings of all species were planted in plastic pots (14 cm Ø; 1.5 L, Puteaux SA, France) in sandy soil (pH = 6). The soil was taken from a grassland site (CEREPE-Ecotron Ile-de-France, St Pierre-lès-Nemours, France) and was sieved (<4 mm) to remove rocks and plant material. Six plant individuals were placed in each pot to form two-species mixtures with three individuals of one insect-pollinated species in alternation with three individuals of one wind-pollinated species. We also set up control monocultures with six individuals of the same species (insect-pollinated or wind-pollinated). Each mixture was replicated 5 times, making a total of 95 pots (5 × 3 monocultures of insect-pollinated species, 5 × 4 monocultures of wind-pollinated species, 5 × 4 × 3 binary mixtures). Pots were randomly placed in a greenhouse (CEREPE-Ecotron Ile-de-France, St Pierre-lès-Nemours, France) and their position was changed each week. Plants were watered daily by sub-irrigation (flood floors, DIMAC SAS, France). Air temperature in the greenhouse followed outdoor conditions but was maintained above 18 °C when low temperatures occurred. Photoperiod was initially set at 12-hours per day through natural light and sodium lamps when necessary (i.e. when solar irradiation was under 200 watt/m²/hour; HS2000 Hortilux Schröder, The Netherlands). It was adjusted to 16-hours per day to allow for the blooming of *L. corniculatus*, a long-day flowering species. Because we were mainly interested by belowground competition in this study, we took special care to check that plant foliage did not overlap between individuals all along the experiment. When plant foliage did overlap (especially in mixtures with *L. corniculatus*) plant supports were put in to separate plant individuals and thus limit aboveground competition (i.e. for light).

Floral traits of insect-pollinated species involved in attractiveness to pollinators.

Flower traits. The flower traits measured every day were the number of newly opened flowers, plant's floral display size and the size of the newly opened flowers. To assess the daily flower production (newly opened flowers per day and per plant), floral buds ready to open were marked the evening before each sampling date, on all individuals of every insect-pollinated plant species. Buds actually opened on a sampling date were counted. Floral display size was calculated as the total number of opened flowers per day and per plant. Among the newly opened flowers (less than 14h-old), up to three flowers per plant were randomly selected to measure flower size and nectar traits (see below). Flower size measurement consisted in measuring corolla size (mm) with a digital caliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe, USA) from the bottom to the tip of the corolla for *E. plantagineum* or to the tip of the keel for *L. corniculatus*. For *L. purpureum*, flower size was measured as the length of the corolla tube only (from the bottom of the corolla to the bottom of the upper lip of the corolla) in order to avoid errors due to strong variability in the opening angle of corolla's upper lip (personal observations).

For all plants, the total number of produced flowers at the end of the flowering period was calculated by summing the daily flower production over the whole flowering period.

Nectar traits. For each plant, nectar volume and nectar sugar content were measured on up to three newly opened flowers, after flower size measurements (see above). This ensured that nectar traits were measured on flowers of the same age to limit variations due to flower age⁵². Nectar was sampled using microcapillary tubes (0.5 µL or 1 µL; Minicaps end to end, Hirschmann laborgeraete, Germany) and nectar volume was calculated by measuring the length of liquid in the microcapillary tube with a digital caliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe, USA) (µL.flower⁻¹.day⁻¹). Daily sugar concentration was determined with hand-held refractometers (Eclipse 45–81 and Eclipse 45–82, Bellingham+Stanley Ltd., UK) calibrated using sucrose solutions (30% and 50% brix). Because nectar not only contains sucrose but also other sugars, our concentration measurements correspond to sucrose equivalent. However, for the sake of brevity, we will only use in the following the term sucrose in reference to “sucrose equivalent”. When nectar volumes were too small to be measured by the refractometer (<0.5 µL), samples were diluted in Milli-Q water before measurement. If concentration measurements could not be done right after sampling, microcapillary tubes were stored in a refrigerator at 4 °C and measured within the next two hours. Because only up to three flowers per plant were sampled, we decided to calculate volume and sucrose indices taking into account the number of flowers produced per plant⁴⁷. The daily volume index per plant was assessed by multiplying the average nectar volume per flower per day with the number of flower produced per plant per day. The daily amount of sucrose allocated to nectar per plant was estimated by multiplying the average concentration of sucrose in nectar per flower per day by the average volume of nectar per flower per day. This daily amount was multiplied by the number of flowers produced per plant per day, giving a daily sucrose index per plant. All daily floral traits (per flower or at the plant scale) can give information on the plant allocation to reproduction all along the flowering period. However, in order to have a global assessment of reward production and plant energy allocation, daily indices were summed along the whole flowering period as total indices¹¹.

Plant traits. At the end of the flowering period of each insect-pollinated plant species (on the 3rd of May 2012 for *L. purpureum* and on the 2nd of June 2012 for *E. plantagineum* and *L. corniculatus*), above- and belowground biomass of all individuals was harvested. Concerning belowground biomass, we took care of separating root systems of each species. Plant biomasses were oven-dried (65°C, 48h) and weighted (g.plant⁻¹).

Competitive interactions. In order to estimate the intensity of competitive interactions between each focal insect-pollinated plant and its wind-pollinated competitors we calculated the log response-ratio (ln RR) as an index of competition²⁸. This index is defined as:

$$\ln RR = \ln \left(\frac{P_{\text{mix}}}{P_{\text{control}}} \right)$$

where P_{mix} is the biomass of a focal plant when grown in mixtures and P_{control} is the biomass of a focal plants in monoculture pots. In order to have a good assessment of the ln RR as well as a variance, ln RR values for each treatment were calculated as means of all possible combinations of each focal plant in a mixture divided by each focal plant in a monoculture. Because three focal plants were present in mixtures, we considered monocultures as ‘mixtures’ of 3 focal plants with 3 ‘competitor’ plants of the same species. Values of this index are symmetrical around zero with positive values indicating that focals grow better in mixture (i.e. focals are better competitors) and negative values indicating that focals’ growth is negatively affected by competitor (i.e. focals are lower competitors). Ln RR values were calculated from aboveground and belowground biomass but only ln RR calculated from total biomass were used to study the effect of competition on final floral traits as it is a better integrator of competition within both compartments.

Data analysis. All statistical analyses were performed using R 3.1⁵³. Linear mixed-effects models were fitted to all measured traits (*nlme* R package⁵⁴), with the exception of floral display size and total flower production that were fitted to generalized mixed-effect models with Poisson probability distribution and log link function (*lme4* R package⁵⁵). As ln RR values are calculated from final biomass here, this may be relevant to study the response of total floral traits (values summed all along the flowering period for each plant to obtain a total value per plant) to competition but not for daily floral traits as competition can be dynamic along plant lifespan³⁶. As a consequence models were fitted with two different explanatory variables: ln RR values calculated from total biomass as a fixed effect for total floral traits (i.e. total flower production, total sucrose index, total volume index) and wind-pollinated species identity as a fixed effect for daily floral traits (i.e. floral display size, flower size, daily sucrose concentration in nectar, daily nectar volume, daily volume index, daily amount of sucrose in nectar, daily sucrose index). The date was also set as a fixed effect for daily floral traits to take into account the effect of plant age. In all models, pots and date (for the repeated measures on plants) were set as random effects. For linear mixed models, data were transformed using log (e.g. floral traits involving nectar volume), square or square root (e.g. flower size, floral traits involving sucrose concentration) transformations, when necessary. Daily data were then analysed through analysis of covariance (ANCOVA). For total data, whose values were summed all along the flowering period for each plant to obtain a total value per plant, analyses of variance (ANOVA) were performed on these total values. When significant differences were detected, post-hoc comparisons were performed (Tukey all-pair comparisons, Holm method for p-value adjustment were used⁵⁶, *multcomp* R package⁵⁷). For the date effect or the interaction term, only significant effects are reported. Because generalized mixed-effect models (glmer, floral display size and total flower production) do not provide p-values, pairwise comparisons with Holm method for p-value adjustment were used⁵⁶.

References

1. Xia, J. & Wan, S. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. *New Phytol.* **179**, 428–439 (2008).
2. Meekins, J. F. & McCarthy, B. C. Responses of the biennial forest herb *Alliaria petiolata* to variation in population density, nutrient addition and light availability. *J. Ecol.* **88**, 447–463 (2000).
3. Burkle, L. A. & Irwin, R. E. The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecol.* **203**, 83–98 (2009).
4. Müller, I., Schmid, B. & Weiner, J. The effect of nutrient availability on biomass allocation patterns in 27 species of herbaceous plants. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* **3**, 115–127 (2000).
5. Havens, K., Preston, K. A., Richardson, C. & Delph, L. F. Nutrients affect allocation to male and female function in *Abutilon theophrasti* (Malvaceae). *Am. J. Bot.* **82**, 726–733 (1995).
6. Muñoz, A. A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L. A. & Arroyo, M. T. K. Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia* **143**, 126–35 (2005).
7. Burkle, L. A. & Irwin, R. E. Beyond biomass: measuring the effects of community-level nitrogen enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. *J. Ecol.* **98**, 705–717 (2010).
8. Soper-Gorden, N. L. & Adler, L. S. Abiotic conditions affect floral antagonists and mutualists of *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). *Am. J. Bot.* **100**, 679–689 (2013).
9. Lau, T.-C. & Stephenson, A. G. Effect of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size and pollen performance in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Am. J. Bot.* **80**, 763–768 (1993).
10. Xiong, S. & Nilsson, C. The effects of plant litter on vegetation : a meta-analysis. *J. Ecol.* **87**, 984–994 (1999).
11. Baude, M. *et al.* Litter inputs and plant interactions affect nectar sugar content. *J. Ecol.* **99**, 828–837 (2011).

12. Petanidou, T., Goethals, V. & Smets, E. The effect of nutrient and water availability on nectar secretion and nectary structure of the dominant Labiatae species of phrygana. *Syst. Geogr. Plants* **68**, 233–244 (1999).
13. Schenk, H. J. Root competition: beyond resource depletion. *J. Ecol.* **94**, 725–739 (2006).
14. Nötzold, R., Blosser, B. & Newton, E. The influence of below ground herbivory and plant competition on growth and biomass allocation of purple loosestrife. *Oecologia* **113**, 82–93 (1997).
15. Partzsch, M. & Bachmann, U. Is *Campanula glomerata* threatened by competition from expanding grasses? Results from a 5-year pot-experiment. *Plant Ecol.* **212**, 251–261 (2011).
16. Weiner, J. The influence of competition on plant reproduction in *Plant reproductive ecology: patterns and strategies* (eds Lovett-Doust J. & Lovett-Doust L.) Ch.11, 228–245 (Oxford university press, 1988).
17. Dafni, A. in *Pollination ecology: a practical approach* (eds Rickwood D. & Hames B. D.) (Oxford university press, 1992).
18. Proctor, M., Yeo, P. & Lack, A. in *The natural history of pollination*. (eds Timber press) (Timber press, 1996).
19. Lázaro, A., Hegland, S. J. & Totland, O. The relationships between floral traits and specificity of pollination systems in three Scandinavian plant communities. *Oecologia* **157**, 249–57 (2008).
20. Mitchell, R. J., Karron, J. D., Holmquist, K. G. & Bell, J. M. The influence of *Mimulus ringens* floral display size on pollinator visitation patterns. *Funct. Ecol.* **18**, 116–124 (2004).
21. Martin, N. H. Flower size preferences of the honeybee (*Apis mellifera*) foraging on *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *Evol. Ecol.* **6**, 777–782 (2004).
22. Conner, J. K. & Rush, S. The effect of flower size and number on pollinator visitation to wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia* **105**, 509–516 (1996).
23. Stang, M., Klinkhamer, P. G. L. & Van der Meijden, E. Size constraints and flower abundance determine the number of interactions in a plant flower visitor web. *Oikos* **112**, 111–121 (2006).
24. Cartar, R. V. Resource tracking by Bumble Bees : responses to plant-level differences in quality. *Ecology* **85**, 2764–2771 (2004).
25. Cnaani, J., Thomson, J. D. & Papajà, D. R. Flower choice and learning in foraging Bumblebees: effects of variation in nectar volume and concentration. *Ethology* **112**, 278–285 (2006).
26. Cardoza, Y. J., Harris, G. K. & Grozinger, C. M. Effects of soil quality enhancement on pollinator-plant interactions. *Psyche a J. Entomol.* **2012**, (2012).
27. Partzsch, M., Piesch, C. & Hensen, I. A comparative study of germination biology and plant performance in two dry grassland species. *Folia Geobot.* **46**, 35–48 (2011).
28. Weigelt, A. & Jolliffe, P. Indices of plant competition. *J. Ecol.* **91**, 707–720 (2003).
29. Gurevitch, J., Scheiner, S. M. & Fox, G. A. Competition and other interactions among plants in *The ecology of plants* 2nd edn, Vol.1 (eds Sinauer, A.D.) Ch.10, 226–256 (Sinauer Associates, 2006).
30. Cahill, J. F. Lack of relationship between below-ground competition and allocation to roots in 10 grassland species. *J. Ecol.* **91**, 532–540 (2003).
31. Raynaud, X. & Leadley, P. W. Soil characteristics play a key role in modeling nutrient competition in plant communities. *Ecology* **85**, 2200–2214 (2004).
32. Rajaniemi, T. K. Evidence for size asymmetry of belowground competition. *Basic Appl. Ecol.* **4**, 239–247 (2003).
33. Callaway, R. M. Positive interactions among plants. *Bot. Rev.* **61**, 306–349 (1995).
34. Gurevitch, J., Scheiner, S. M. & Fox, G. A. Soils, mineral nutrition, and belowground interactions in *The ecology of plants* 2nd edn, Vol.1 (eds Sinauer, A.D.) Ch.4, 71–97 (Sinauer Associates, 2006).
35. Pitelka, L. F. Energy allocations in annual and perennial Lupines (*lupinus* : Leguminosae). *Ecology* **58**, 1055–1065 (1977).
36. Trinder, C., Brooker, R., Davidson, H. & Robinson, D. Dynamic trajectories of growth and nitrogen capture by competing plants. *New Phytol.* **193**, 948–958 (2012).
37. Pyke, G. H. What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature* **350**, 58–59 (1991).
38. Southwick, E. E. Photosynthate allocation to floral nectar: a neglected energy investment. *Ecology* **65**, 1775–1779 (1984).
39. Snow, A. A. & Whigham, D. F. Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology* **70**, 1286–1293 (1989).
40. Wurst, S. & van Beersum, S. The impact of soil organism composition and activated carbon on grass-legume competition. *Plant Soil* **314**, 1–9 (2009).
41. Kaschuk, G., Kuyper, T. W., Leffelaar, P. A., Hungria, M. & Giller, K. E. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses? *Soil Biol. Biochem.* **41**, 1233–1244 (2009).
42. De Pascual-Teresa, S. & Sanchez-Ballesta, M. T. Anthocyanins: from plant to health. *Phytochem. Rev.* **7**, 281–299 (2008).
43. Gardener, M. C. & Gillman, M. P. The effects of soil fertilizer on amino acids in the floral nectar of corncockle, *Agrostemma githago* (Caryophyllaceae). *Oikos* **92**, 101–106 (2001).
44. Kjaer, L. P., Weisbach, A. N. & Weiner, J. Root and shoot competition: a meta-analysis. *J. Ecol.* **101**, 1298–1312 (2013).
45. Hegland, S. J. & Totland, Ø. Relationships between species' floral traits and pollinator visitation in a temperate grassland. *Oecologia* **145**, 586–94 (2005).
46. Goulson, D., Stout, J. C., Hawson, S. A. & Allen, J. A. Floral display size in comfrey, *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae): Relationships with visitation by three bumblebee species and subsequent seed set. *Oecologia* **113**, 502–508 (1998).
47. Leiss, K. A. & Klinkhamer, P. G. L. Spatial distribution of nectar production in a natural *Echium vulgare* population: Implications for pollinator behaviour. *Basic Appl. Ecol.* **6**, 317–324 (2005).
48. Snow, A. A. Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. *Oecologia* **55**, 231–237 (1982).
49. Gange, A. C. & Smith, A. K. Arbuscular mycorrhizal fungi influence visitation rates of pollinating insects. *Ecol. Entomol.* **30**, 600–606 (2005).
50. Barber, N. A. & Soper Gorden, N.L. How do belowground organisms influence plant-pollinator interactions? *J. Plant Ecol.* **8**, 1–11 (2015).
51. Hill, M., Mountford, J., Roy, D. & Bunce, R. Ellenberg's indicator values for British plants (volume 2a) In *Technical Annex to ECOFACT Research report series*, Vol. 2. (Institute of Terrestrial Ecology, 1999).
52. Southwick, A. K. & Southwick, E. E. Aging effect on nectar production in two clones of *Asclepias syriaca*. *Oecologia* **56**, 121–125 (1983).
53. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (2014). Available at: <http://www.R-project.org/>. (Accessed: 27th march 2015).
54. Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team. *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models R package version 3.1–117* (2014). Available at: <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>. (Accessed: 27th march 2015).
55. Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S. *lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R package version 1.1–6* (2014). Available at: <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>. (Accessed: 27th march 2015).
56. Aickin, M. & Gensler, H. Adjusting for multiple testing when reporting research results: The Bonferroni vs Holm methods. *Am. J. Public Health* **86**, 726–728 (1996).
57. Hothorn, T., Bretz, F. & Westfall, P. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical J.* **50**, 346–363 (2008).

Acknowledgments

This work was supported by a grant from the Fédération Ile-de-France de Recherche en Environnement (FIRE) and the Ile-de-France region through the DIM R2DS program. We are grateful to all the members of the CEREPE Ecotron Ile-de-France. We also thank Jean-Paul Maalouf for statistical advice, Elisa Thébault and Benoît Geslin for helpful comments.

Author Contributions

F.F., X.R. and I.D. conceived and designed the study. All authors (F.F., X.R., A.H., E.M. and I.D.) collected data. F.F. and X.R. performed statistical analysis. F.F. wrote the first draft of the manuscript and all authors (F.F., X.R., A.H., E.M. and I.D.) contributed substantially to revisions.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at <http://www.nature.com/srep>

Competing financial interests: The authors declare no competing financial interests.

How to cite this article: Flacher, F. *et al.* Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species. *Sci. Rep.* **5**, 13345; doi: 10.1038/srep13345 (2015).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Supplementary information

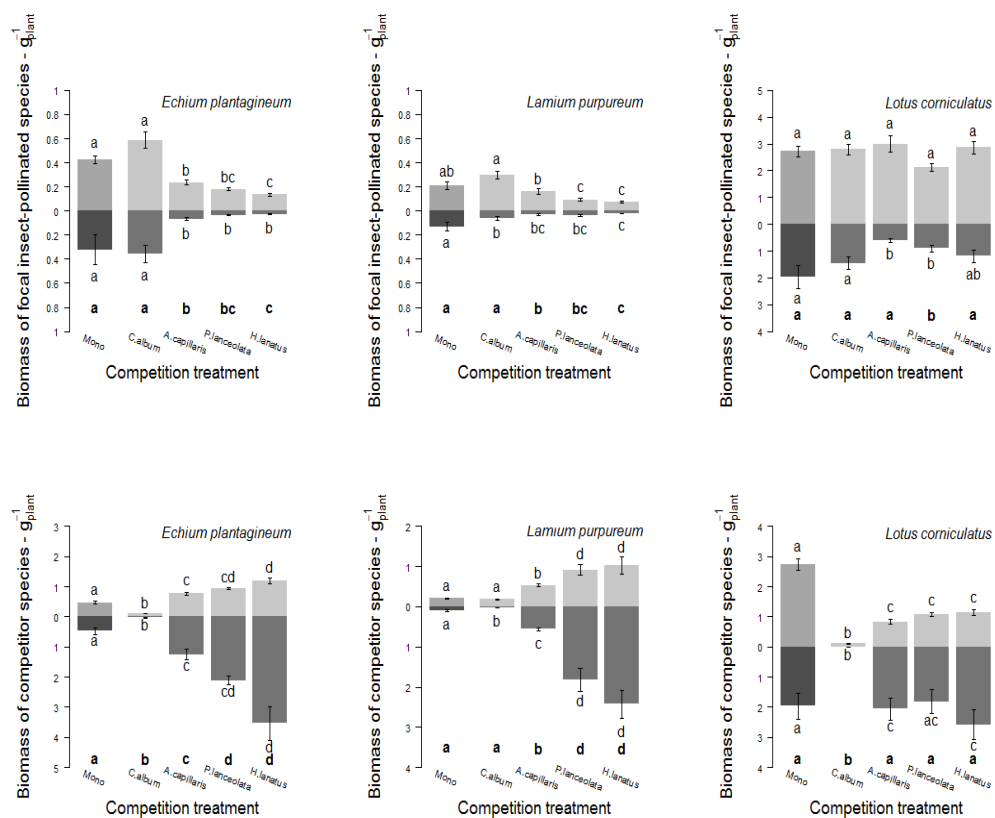
Title: Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species. Floriane Flacher, Xavier Raynaud, Amandine Hansart, Eric Motard and Isabelle Dajoz

Supplementary Figure S1: Mean (\pm standard error) biomass ($\text{g} \cdot \text{plant}^{-1}$) of: *E. plantagineum*, *L. purpureum* and *L. corniculatus* in mixture with the competitors (three top panels), and competitor species in mixtures with *E. plantagineum*, *L. purpureum* and *L. corniculatus* (three bottom panels). Above-ground biomass (light grey, $P_{L. purpureum}$ and $P_{E. plantagineum} < 0.01$, $P_{L. corniculatus} = 0.06$; $P_{\text{competitors with } L. purpureum}$, $P_{\text{competitors with } E. plantagineum}$, $P_{\text{competitors with } L. corniculatus} < 0.01$), below-ground biomass (dark grey, $P < 0.01$ for all) (ANOVA, $N=75$ for each test). “Mono” refers to monocultures of the focal species. Wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results). Different letters are for significant differences (Tukey all pair comparison test and adjustment of p-values, Holm method⁵⁶) (bold letters: total biomass; letters at the top: above-ground biomass; letters at the bottom: below-ground biomass).

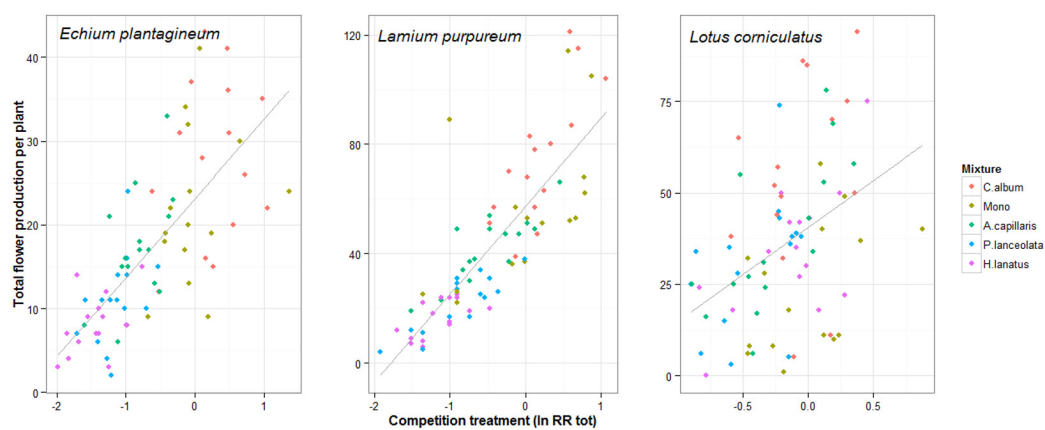
Supplementary Figure S2: Linear regression between the total flower production and mean \ln RR values per plant calculated from final biomass ($P < 0.001$ with transformed data for all three species; *E. plantagineum* $R^2=0.52$, *L. purpureum* $R^2=0.70$ and *Lotus corniculatus* $R^2=0.21$). The grey line refers to the model after data transformation while dots represent untransformed data. \ln RR values are associated to mixtures in the legend.

Supplementary Figure S3: Mean (\pm standard error) flower size (mm) of *E. plantagineum*, *L. purpureum* and *L. corniculatus* in mixture with the competitors. “Mono” refers to monocultures of the focal species. Wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results). *E. plantagineum*: $N= 806$, $F_{4,772}= 7.35$, $P < 0.001$; *L. purpureum*: $N= 1971$, $F_{1,1936}= 8.96$, $P < 0.001$; *L. corniculatus*: $N= 1070$, $F_{4,1036}= 4.69$, $P < 0.001$ (ANCOVA). Different letters are for significant differences (Tukey all pair comparison test and adjustment of p-values, Holm method⁵⁶)

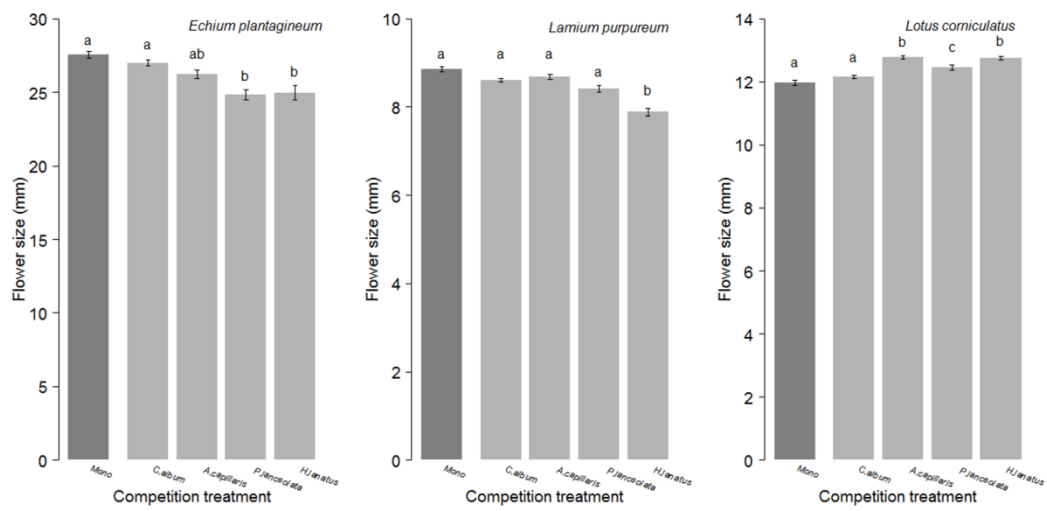
Supplementary Figure S1:



Supplementary Figure S2:



Supplementary Figure S3:



Supplementary Table S1: Plant species description ¹⁻³ (Family names are given according to APG III classification⁴)

Plant species	Status	Life cycle	Habitat	Habitat preference based on Ellenberg values ⁵	Other characteristics
Insect-pollinated species					
<i>Echium plantagineum</i> L. (Boraginaceae)	native to the western Mediterranean basin subspontaneous in the region	annual or biennial	along coasts, sandy places	full light intermediate fertility intermediate pH	violet tubular flowers mainly pollinated by honeybees, bumblebees, butterflies
<i>Lamium purpureum</i> L. (Lamiaceae)	native to the region	annual	grasslands, forest hedges	intermediate light high fertility intermediate pH	pink tubular flowers mainly pollinated by honeybees, bumblebees
<i>Lotus corniculatus</i> L. (Fabaceae)	native to the region	perennial	grasslands	intermediate to full light low fertility low to intermediate pH	nitrogen fixer; yellow tubular flowers mainly pollinated by bumblebees
<i>Mimulus guttatus</i> DC. syn. <i>Erythranthe guttata</i> (Fisch. ex DC.) G.L.Nesom (Phrymaceae)	Subspontaneous in the region	perennial	grasslands, streambanks	intermediate to full light intermediate fertility intermediate pH	yellow tubular flowers mainly pollinated by bumblebees and solitary bees
Wind-pollinated species					
<i>Agrostis capillaris</i> L. (Poaceae)	native to the region	perennial	grasslands, wastelands	intermediate light intermediate fertility low to intermediate pH	
<i>Chenopodium album</i> L. (Amaranthaceae)	native to the region	annual	grasslands, wastelands	intermediate to full light high fertility intermediate pH	
<i>Holcus lanatus</i> L. (Poaceae)	native to the region	perennial	grasslands, wastelands	intermediate to full light intermediate fertility intermediate pH	
<i>Plantago lanceolata</i> L. (Plantaginaceae)	native to the region	perennial	grasslands, wastelands	intermediate light intermediate fertility intermediate pH	

REFERENCES of Supplementary information

1. Coste, H. "Flore de la France." *Paris: Librairie des Sciences Naturelles* (1901).
2. Hanley, M. E. & Goulson, D. Introduced weeds pollinated by introduced bees : Cause or effect ? *Weed Biol. Manag.* **3**, 204–212 (2003).
3. Free, J. The flower constancy of bumblebees. *J. Anim. Ecol.* **39**, 395–402 (1970).
4. Chase, M. W., Reveal, J. L., Hortorium, L. H. B., Biology, P. & Building, M. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot. J. Liennan Soc.* **161**, 122–127 (2009).
5. Hill, M., Mountford, J., Roy, D. & Bunce, R. *Ellenberg's indicator values for British plants. ECOFACT Volume 2 Technical Annex.* (1999).

IV. Chapitre 2

*[...] I could maybe go out
for a couple of beers,
but there's this thing
about bumblebees on
the Discovery Channel [...]*

Ross, Friends (Saison 4, épisode 9)

Chapitre 2 - Compétition entre plantes et traits fins d'attractivité aux pollinisateurs

Présentation du chapitre :

A l'issue du Chapitre 1, il semble clair que la présence d'espèces anémophiles, au travers d'interactions de compétition pour les ressources, peut influencer certains traits floraux impliqués dans l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles, notamment chez des plantes annuelles. Néanmoins, seule l'attractivité potentielle a été estimée au cours de cette première étude. Afin de savoir si les modifications observées peuvent influencer les interactions plantes-pollinisateurs, il convient de s'intéresser à l'attractivité réelle des plantes entomophiles, et donc à la réponse de la faune pollinisatrice.

Ce chapitre 2 s'intéresse aux interactions entre une plante focale *Echium plantagineum* (précédemment étudiée), et un pollinisateur commun, *Bombus terrestris*. Il vise à déterminer si les modifications d'attractivité potentielle observées au cours du Chapitre 1 se traduisent par des modifications d'attractivité réelle. En d'autres termes, ce Chapitre 2 s'intéresse aux visites d'un pollinisateur sur une plante entomophile en réponse à la compétition pour les ressources du sol induite par la présence d'espèces anémophiles, via des modifications de traits floraux (Fig. 3).

Dans cet objectif, une deuxième expérience sous serre a été menée. L'espèce focale a été cultivée en mélange binaire dans des pots avec trois des espèces anémophiles compétitrices utilisées dans le chapitre 1, *Chenopodium album*, *Agrostis capillaris* et *Holcus lanatus*, conservant ainsi une partie du gradient d'intensité de compétition établi dans le chapitre précédent. Des monocultures ont également été réalisées en guise de témoins. Afin de tester l'hypothèse du Chapitre 1 selon laquelle les modifications observées sont probablement due à une compétition pour les ressources du sol, cette dernière a été contrôlée en séparant les individus de l'espèce focale de ceux de l'espèce compétitrice par des cloisons installées dans les pots. Selon le traitement de compétition les cloisons étaient percées ou non, laissant ainsi la possibilité (ou non) aux systèmes racinaires des deux espèces en mélange d'interagir. Pour chaque observation de visite, deux pots d'un mélange donné (un avec cloison percée, l'autre avec cloison fermée) ont été placés dans une arène de vol. Le pollinisateur était ainsi soumis à un dispositif visuel similaire, l'attractivité seule étant modifiée. Les traits floraux étudiés au

cours du Chapitre 1 ont été également mesurés afin de pouvoir les relier aux visites du pollinisateur étudié : choix de première visite, temps avant la première visite et nombre de visites (totales et sur des séquences de 10min).

Ce chapitre 2 confirme le panel d'interaction observé au cours du chapitre 1. Nous avons notamment observé en effet significatif de l'identité du compétiteur (quelque soit le traitement de compétition) sur les mesures de biomasses et les valeurs de Log Response ratio : globalement, *C. album* semble avoir un effet positif sur les performances de la plante focale *E. plantagineum*, tandis que *H. lanatus* induit un effet négatif lié à la compétition. Par ailleurs, l'effet de la compétition pour les ressources du sol semble plutôt s'exprimer via une interaction avec l'identité du compétiteur, suggérant donc un effet différent selon l'espèce anémophile en mélange. Néanmoins, en ce qui concerne les traits floraux étudiés, c'est l'identité du compétiteur, plutôt que la présence ou non d'interactions souterraines, qui a l'influence la plus importante. Ainsi, que la compétition souterraine au sein des mélanges soit présente ou non, la production de traits floraux (vitrine florale, indices de nectar) a tendance à augmenter en présence de *C. album* (voire même à être plus importante qu'en monoculture) alors que la présence de *H. lanatus* a conduit à une diminution de ces traits. Ceci suggère que les interactions épigées, et notamment la compétition pour l'accès à la lumière, qui n'a pas ici été contrôlée, a pu jouer un rôle dans cette expérience. En effet, au sein des mélanges sans compétition hypogée, le log response ratio (calculé sur les biomasses épigées) diffère entre les deux extrêmes du panel d'interactions. Ainsi la présence de *H. lanatus* induirait une compétition épigée, probablement via une forte production de biomasse aérienne comparée à *C. album*. Cependant *E. plantagineum* ne présente pas une diminution des traits floraux en absence de compétition hypogée. Ainsi il est plus probable qu'il existe un trade-off chez *E. plantagineum*, l'allocation d'énergie pouvant être favorisée vers les structures reproductrices au détriment des structures végétatives.

Concernant l'attractivité réelle aux pollinisateurs (représentée par le nombre de visites effectuées) aucune des variables étudiées ne semble être expliquée par la présence de compétition pour les ressources du sol rejoignant ainsi les observations faites pour les traits floraux. Le paramètre impacté par la compétition hypogée (au moins via une interaction avec l'identité du compétiteur) qui aurait pu avoir une influence sur le nombre de visite reste la vitrine florale. Or dans l'expérience de présentation des plantes aux pollinisateurs, ce paramètre a été maintenu constante (en utilisant des pots ayant le même nombre de fleurs

quelque soit le traitement de compétition) afin d'étudier la réponse des pollinisateurs à des variations plus fines des traits d'attractivité (notamment au niveau des récompenses). Par ailleurs, le nombre de visites ne semble pas non plus être influencé par l'identité du compétiteur. Cette dernière ayant un effet sur les paramètres floraux, nous nous attendions cette fois à des différences de visites selon les mélanges. Les différences significatives observées chez les traits floraux pourraient être trop faibles par rapport à la sensibilité des pollinisateurs étudiés n'entraînant donc pas de modifications du nombre de visites faites sur *E. plantagineum*. Par ailleurs, ces différences ont été observées lors de prélèvements effectués sur des fleurs nouvelles. Or la production de récompenses, mais aussi la taille des fleurs peuvent dépendre de l'âge de la fleur. N'ayant pas pu fournir uniquement des fleurs nouvelles aux pollinisateurs, il est possible que l'effet de l'identité du compétiteur ait été dilué.

A l'issue de ce chapitre 2 il semble donc que la compétition induite par la présence d'une espèce anémophile n'influence pas les interactions plantes-pollinisateurs via des traits d'attractivité fins comme la production de récompenses. Par ailleurs, le contrôle de la vitrine florale a probablement gommé ici l'effet d'un trait d'attractivité qui semble très important. Cet aspect mérite donc d'être plus approfondi.

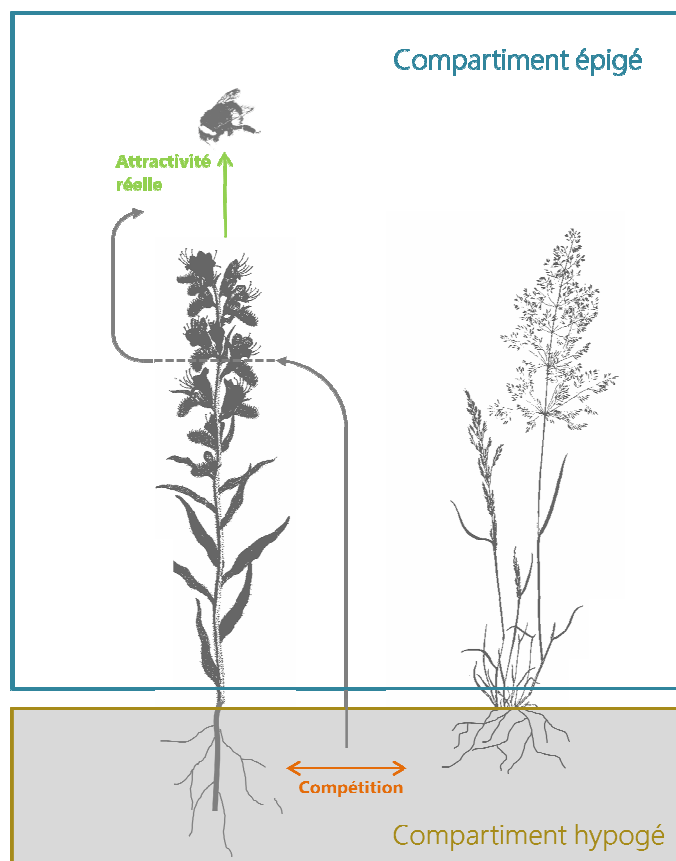


Figure 3 : Cadre d'étude du Chapitre 2

**Does competition with wind-pollinated species alter *Echium plantagineum* attractiveness
to a common pollinator, *Bombus terrestris*?**

Floriane Flacher¹, Amandine Hansart², Eric Motard³, Benoit Geslin⁴, Abdou Fofana⁵, Isabelle
Dajoz³ & Xavier Raynaud⁶

Author affiliations:

¹ CNRS, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, Institute of Ecology and Environmental Sciences - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris

² CNRS, UMS 3194 CEREEP-Ecotron Ile de France, F-77140 Saint-Pierre-lès-Nemours

³ Université Paris Diderot Paris 7, Institute of Ecology and Environmental Science - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris

⁴ Université Aix Marseille Université, Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale 9 (IMBE) CNRS, IRD, Avignon Université Pôle St Jérôme av. Escadrille N. Niemen 13397 Marseille cedex 20

⁵ Université Memorial de Terre-Neuve 230 Elizabeth Ave, St. John's, NL A1B 3X9, Canada

⁶ Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, Institute of Ecology and Environmental Science - Paris, UMR 7618, 46 rue d'Ulm, F-75005 Paris

ABSTRACT

In order to attract pollinators, insect-pollinated plants display several traits, such as the number of flowers, their size, colour or odor as well as rewards (i.e. pollen and nectar). These traits vary among plant species and can lead to differences in attractiveness to pollinators. These traits also depend on interactions between plants, especially competition. Indeed, at the plant community level, competition occurring between insect-pollinated and wind-pollinated plant species can lead to a decrease in flower or reward production in insect-pollinated species. However, to our knowledge, the influence of floral trait modifications, through competition induced by wind-pollinated species, on pollinator visits has not been investigated yet. In this experiment, an insect pollinated species, *E. plantagineum*, was grown in binary mixture with three wind-pollinated plants that were selected to exert a panel of competitive interaction. Moreover we controlled belowground competition according to two modalities: with or without belowground competition. Floral traits as well as pollinator visits were measured. The “with competition” treatment had no effect on both floral traits and pollinators visits (except nectar sucrose concentration). However there was an influence of the competitor identity on flower and reward production with lower rewards and flower production of the insect-pollinated plant species when grown with strongly competitive wind-pollinated species. For pollinator visits, we found a tendency for more rapid visits on insect-pollinated plants in presence of the weakest competitor.

INTRODUCTION

In insect-pollinated plants, attractiveness relies on the production of advertising as well as rewarding traits for pollinators, such as flowers, nectar or pollen (Kearns & Inouye, 1993).

The number of simultaneously open flowers (floral display size) plays a key role in initiating visits of a pollinator on a plant (Dafni, 1992) but also influence the number of visitation events (Conner & Rush, 1996, Mitchell *et al.*, 2004, Grindeland *et al.*, 2005, Miyake & Sakai, 2005, Makino *et al.*, 2007). Nectar and pollen are sources of sugars and proteins influencing the number and the repetition of pollinator visits (Dafni, 1992). These traits are known to vary at the plant level (Herrera *et al.*, 2006) or at the population level (Lanza *et al.*, 1995). Most importantly these traits usually differ between species. Due to pollinator's preferences for some floral traits (e.g greater floral display size, greater amount of rewards), variations in these traits induce differences of attractiveness between plant species in a community. Several studies have shown that the presence of a plant species producing numerous flowers and/or greater rewards (in quantity and quality) can alter pollinator visits on neighbouring species. This effect can be positive, the attractive plant being a “magnet” benefiting less attractive surrounding plant species (Lavery, 1992, Molina-Montenegro *et al.*, 2008) or negative, the attractive species focusing most pollinator visits at the expense of neighbouring species (Brown & Mitchell, 2001; Muñoz & Cavieres, 2008 ; Kandori *et al.*, 2009). Such competition for pollination between plant species can lead to modification in species reproductive success (Bell *et al.*, 2005; Mitchell *et al.*, 2009). While these differences in individual attractiveness are dependent of the neighbouring context, some studies have shown that the nutritional context of a plant can also lead to differences in floral traits involved in attractiveness to pollinator. Indeed, the addition of nutrients (e.g. nitrogen or phosphorus: Lau & Stephenson, 1993,1994; Burkle & Irwin, 2009, 2010; Muñoz *et al.*, 2005; Soper-Gorden & Adler, 2013) as well as litter (Baude *et al.*, 2011), compost (Cardoza *et al.*, 2012) or water (Petanidou *et al.*, 1999) can have a positive impact on flower production as well as pollen and nectar quantity or quality. As the composition of plant communities can alter the availability of resources to plant species, it has been suggested that competitive interactions between plants for abiotic

resources may also alter plant attractiveness traits to pollinators. Some studies demonstrated that competition could alter allocation to reproduction (Weiner 1988). Working with mixtures of insect-pollinated plants, Baude *et al.*, 2011 found that the presence of a strong competitor led to a decrease of sugar allocated to nectar in a focal species. Likewise, the presence of a wind-pollinated competitor reduced flower production of *C. glomerata* (Partzsch & Bachmann, 2011) and Flacher *et al.* 2015 found that competition induced by wind-pollinated plants led to a decrease in floral display size, flower size but also total flower production and total sugar allocated to nectar in two annual insect-pollinated species. In this last experiment, the stronger the effect on attractiveness traits. Overall, the composition of the plant community could play a key role in the maintenance of plant-pollinator interactions both through “direct” (competition for pollination) and “indirect” (competition for resources) interactions. Moreover, because competition for resources can occur between insect-pollinated and wind-pollinated plants species, Partzsch & Bachmann (2011) and Flacher *et al.* (2015) strongly suggest that the whole plant community, and not only insect-pollinated species, can influence plant-pollinator interactions. However little attention has been paid to the role of competition between plants on interactions with pollinators. In order to understand pollinator's response to modifications of floral traits due to interactions for resources acquisition, we set up a pot experiment in which a focal insect-pollinated plant (*Echium plantagineum*) was grown in binary mixtures with wind-pollinated plants (*Chenopodium album*, *Agrostis capillaris*, *Holcus lanatus*). These last three species were selected to create a panel of competitive interactions (see Flacher *et al.*, 2015). We focused on belowground competition as it is often cited to be the most important part of competition in natural plant communities (Kiaer *et al.*, 2013). Floral traits (flower and nectar production) as well as visits by a common pollinator *Bombus terrestris* were followed on the focal species. The objective of this study was to determine if 1) belowground competition induced by wind-pollinated

species could influence pollinator visits through modifications of floral traits involved in plant attractiveness and 2) if these modifications depend on competitor identity (i.e. competition intensity, see Flacher *et al.*, 2015).

MATERIAL & METHODS

Plant species

A total of 4 plant species were selected, based on similar ecological preferences: one focal insect-pollinated plant, *Echium plantagineum*, as well as 3 wind-pollinated species, *Chenopodium album*, *Agrostis capillaris*, and *Holcus lanatus*. These last three species were selected to exert varying degrees of competitive interactions on the focal insect-pollinated plant, from positive (*Chenopodium album*) to strongly negative (*Holcus lanatus*, see Flacher *et al.* 2015) and are named “competitors” in the following. Plant species descriptions are given in Table 1 (See supplementary information).

Experimental set-up

The experiment took place in a greenhouse at the CEREAP Ecotron Ile-de-France (Foljuif, St Pierre-lès-Nemours, France). In spring 2013, seedlings of all plant species were planted in plastic pots (14 cm Ø; 1.5L, Puteaux SA, France) containing sandy soil (pH=6). Soil was taken from a nearby grassland site and was sieved (<4 mm) to remove rocks and plant material. Each pot was divided by plastic dividers that were glued inside the pots into two compartments containing 3 plants each. These compartments were aimed at controlling belowground competition. In half of pots, dividers were largely perforated to allow interactions between root systems of plants from the two compartments (“with competition” treatment) whereas in the other half were not, dividers were not perforated preventing

competition (“without competition” treatment). In pots containing mixtures, one compartment was planted with 3 focal plants while the other was planted with 3 plants of one competitor species. Monocultures contained 6 plants of the focal species, 3 plants in each compartment. All in all, the experiment consisted in 4 plant treatments (3 mixtures and 1 monoculture) crossed with 2 competition treatments (with or without competition). Each combination of mixture and competition was replicated 15 times, making a total of 120 pots (4x2x15 pots). Pots were randomly placed in the greenhouse and their position was changed each week. Air temperature in the greenhouse followed outdoor conditions but was maintained above 18 °C when low temperatures occurred. Photoperiod was initially set at 12-hours per day using natural light and sodium lamps when necessary (i.e. when solar irradiation was lower than 200 watt/m²/hour; HS2000 Hortilux Schröder, The Netherlands). Among those 120 pots, 40 were used to measure floral traits (“floral trait pots” see “Floral traits” section) and 80 were used to observe pollinator visits (“visited pots”, see “Pollinator visits” section). Indeed, pollinator visits as well as sampling deplete floral resources (e.g. nectar) or damage flowers (bumblebee marks, flower handling) so that using the same pots to follow both floral traits measurements and pollinator visits could have led to a misestimation of floral traits production and/or pollinator visits.

Floral traits

Flower production and flower size

Flower production was measured each day on all focal plants growing in the pot set dedicated to floral traits measurements. Buds ready to open were marked the day before each sampling. Flowers actually opened the day after were counted. The total number of opened flowers (new and old) was also counted to estimate the daily floral display size per plant. For each plant, 3

newly open flowers were selected at most for flower size measurements and nectar sampling (see “Nectar traits”) Flower size was measured from the bottom of the corolla to the tip of the upper petal using a digital calliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe, USA).

Nectar traits

Nectar production was followed every day on all focal plants of the same pot set. On a maximum of 3 newly open flowers (see “Flower production and flower size”), nectar was sampled using calibrated microcapillary tubes of 0.5 μ L and 1 μ L (Minicaps end to end, Hirschmann laborgeraete, Germany). Nectar volume per flower was estimated by measuring the length of sampled nectar in the microcapillary tube with a digital calliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe, USA). Right after sampling, nectar sugar concentration per flower was measured with hand-held refractometers for small volumes (Eclipse 45-81 and Eclipse 45-82, Bellingham+ Stanley Ltd., UK) and expressed in g.L⁻¹ thanks to a conversion table (Kearns & Inouye 1993). When nectar volumes were too small, samples were diluted with MilliQ water (Millipore Corporation) before measurement. Refractometers were calibrated with a 30% sucrose solution at 20°C. Because nectar contains other sugars than sucrose (Kearns & Inouye 1993), our concentration measurements correspond to sucrose equivalent. However, for the sake of brevity, in the following, “sucrose” will refer to “sucrose equivalent”. Measurements were corrected according to temperature when necessary. The amount of sucrose allocated to nectar per flower was calculated by multiplying nectar volume per flower and nectar concentration per flower. To estimate the amount of sucrose allocated to nectar per plant, the amount of sucrose allocated to nectar per flower was multiplied by the number of produced flowers per plant and to produce a “daily sucrose index”. This index was also summed all along the flowering period (“total sucrose index”) to estimate the whole plant allocation to nectar. The same index was calculated for nectar volume. As flowers submitted to pollinators

could not be all newly open flowers, the production of nectar per flower was also followed from 1 to 2 days after the opening day to assess if nectar production varied with flower age in the focal species.

Bumblebee colonies

We studied visits of a bumblebee species, *Bombus terrestris* subspecies *terrestris*. This species is a common pollinator in France, providing a good pollination service and is easy to breed. Colonies of *B. terrestris* are widely used in agriculture for crop pollination in greenhouses (Velthuis & van Doorn, 2006). Colonies were supplied by KOPPERT Biological Systems (Netherlands). They were stored in a room with controlled temperature (20°C). Bumblebees were fed daily (2h, Baude *et al.*, 2008; after all observations) with a sucrose solution supplied by the company. We also provided 4g of pollen (the equivalent of a teaspoon) as a dietary supplement every 3 to 5 days. A total of 9 colonies were used all along the experiment.

Pollinator visits

From May to July 2013, we followed pollinator visits on plants from the “visited pots” set. Observations took place in a flying arena, made of a nylon mesh cage (150x80x130cm; mesh size 0.93x1.6mm, TIP 1700, Texinov). We worked with naïve bumblebees in order to exclude acquired preferences from a foraging experience that could have interfered with our treatments. Before observations, the colony was starved for 12h at least. As the starvation period grew along hours, we took care to randomize different starvation status among the treatments. For each observation, 2 pots of the same plant treatment, one of each competition treatment (with and without competition), were placed in the flying arena. As much as possible, we chose pots with newly opened flowers to match measurement of nectar made on “floral traits pots” with nectar parameters of “visited pots”. As floral display size (total

number of open flowers) can be involved in attractiveness, therefore we chose pots with similar number of flowers to test the effect of modifications in fine attractiveness traits such as rewards. As a result, for each observation, pollinators would be submitted to one plant treatment, with similar number of flower per plant, but potentially different rewards induced by belowground competition. As bumblebees can lay scented marks (Stout & Goulson 2001) or damages on flower that may influence the visit of a congener pots were changed for every bout. In the same way, a delay of 48h was settled before reusing a pot for observation. For each observation, the colony was opened to let an individual go out and be transported to the flying arena a few meters away. An observation began as soon as the pollinator was released in the flying arena. Visits were recorded using the Jwatcher software (version 0.9) for 41 minutes. For each mixture type, we recorded the time to first visit, the number of visits and the sequence of visits along the pollination round.

Plant biomass

At the end of the experiment, we carried out several biomass measurements to confirm the gradient of competitive interactions previously found (see Flacher *et al.*, 2015). In “floral traits pots”, we harvested aboveground and belowground biomass of all plants species (focal and competitors). In “visited pots”, we also harvested aboveground biomass, as we hypothesized that pollinators might be sensitive to aboveground biomass when foraging (i.e. focals with greater biomass may attract more pollinators in our experimental design). For belowground biomass we took special care to separate roots of each plant individual. Harvested biomasses were dried 48h at 60°C in a stove.

Competitive interactions

In order to estimate the intensity of competitive interactions between each focal insect-

pollinated plant and its wind-pollinated competitors we calculated the log response-ratio (ln RR) as an index of competition (Weigelt & Jolliffe, 2003). This index is defined as:

$$\ln RR = \ln \left(\frac{P_{\text{mix}}}{P_{\text{control}}} \right)$$

where P_{mix} is the biomass of a focal plant when grown in mixtures and P_{control} is the biomass of a focal plants in monoculture pots. In order to have a good assessment of the ln RR as well as a variance, ln RR values for each treatment were calculated as means of all possible combinations of each focal plant in a mixture divided by each focal plant in a monoculture. Because three focal plants were present in mixtures, we considered monocultures as ‘mixtures’ of 3 focal plants with 3 ‘competitor’ plants of the same species. Values of this index are symmetrical around zero with positive values indicating that focals grow better in mixture (i.e. focals are better competitors) and negative values indicating that focals’ growth is negatively affected by competitor (i.e. focals are lower competitors). Ln RR values were calculated from aboveground and belowground biomass but only ln RR calculated from total biomass were used to study the effect of competition on final floral traits as it is a better integrator of competition within both compartments.

Statistical analysis

All statistical analysis were performed using R 3.2.2 (R Core Team 2015).

Plant traits

Biomass, flower size and nectar traits were analyzed through linear mixed models (nlme package, Pinheiro *et al.*, 2015). As both linear and generalized mixed models did not fit well daily flower production and floral display size we used non parametric test (Kruksal Wallis) for these two variables. However, generalized mixed models were used for the total flower

production (lme4 package, Bates *et al.*, 2015). ANCOVA were performed with competitor and competition treatment set as fixed effects while pots and plants were set as random effects. The date was set as a covariate (fixed effect) to take into account the influence of plant age on flower and reward production. It was also set as a random effect to take into account repeated measures on same plants. Because generalized mixed-effect models (total flower production) do not provide p-values, pairwise comparisons with Holm method for p-value adjustment were used. Data were transformed when not normal (log and square root transformations for biomass, nectar volume and amount of sugar allocated to nectar).

Pollinator visits

As only 31% to 46% of observations lead to visits depending on mixture type, ($N_{CH}=12$, $N_{EC}=11$, $N_{AG}=13$, $N_{HO}=10$) we performed non parametric tests to study the effect of our two treatments (competition and competitor identity) on pollinator visits. For the first choice of visit on a pot, Pearson's Chi-squared was performed for each mixture. The null hypothesis was that the number of first visits would be equally distributed among pots submitted or not to competition ($p=0.5$). Simulations ($N=2000$, Monte Carlo simulations) were run as the number of visits for each category was not always superior or equal to 5. Time to first visit was analysed thanks to survival analysis (Coxph function of the R Survival package, Therneau & Grambsch, 2000). Kurskal-Wallis tests were performed for the total number of visits and the number of visit per 10 minutes sequences. We tested the competition effect on one hand, the competitor identity effect on the other hand and the interaction between both was tested through differences of visits between competition levels among each mixture. P-values were adjusted thanks to the “Holm” method.

RESULTS

Plant traits

Biomass and competitive interactions

There was no significant effect of the competition treatment on aboveground, belowground and total biomass in “floral traits pots” and “visited pots” (Table 1 and see Supplementary information, Fig S1). However, there was a significant effect of the competitor identity and of the competition: competitor identity interaction (Table 1) meaning that the impact of competition depended on competitor identity. In presence of belowground competition (C+) aboveground, belowground and total biomass of *E. plantagineum* were significantly higher in mixture with *C. album* (even compared to monocultures for aboveground and total biomass) in opposition to mixtures with *H. lanatus* (Fig. S1). Moreover there were no significant differences of biomass between mixtures in absence of competition. For lnRR values calculated on aboveground biomass there was no effect of competition but a significant effect of both the competitor identity and the competition:competitor identity interaction (Table 1). *C. album* was the weakest competitor (even compared to monocultures) while *H. lanatus* acted as the strongest competitor of this competitive gradient (see Table 2). *A. capillaris* tended to be an intermediate competitor with *E. plantagineum* (Table 2). Therefore, *E. plantagineum* individuals were submitted to the following panel of competitive interactions: $C. album_{\text{mixtures}} < \text{Monocultures} < A. capillaris_{\text{mixtures}} < H. lanatus_{\text{mixtures}}$. For lnRR values bases on belowground and total biomasses, once again we found an effect of the competitor identity and of the competition:competitor identity interaction (Table 1) but also a significant effect of competition alone (Table 1). While the same panel of competitive interaction was found in presence of belowground competition (Table 2), *C. album* acted as the strongest competitor in the absence of belowground competition.

Flower traits

Daily flower production, total flower production, floral display size and flower size were not affected by the separate effect of competition (all $P > 0.05$). However these traits were significantly affected by the competitor identity with a decrease along the competitive gradient. Indeed, daily flower production, total flower production, floral display size and flower size were significantly higher when *E. plantagineum* was in presence of *C. album* compared to mixtures with *H. lanatus* ($\chi^2=77.09$, $df=3$, $P < 0.01$, $\chi^2=8.37$ $df=3$, $P=0.04$ and $\chi^2=226.11$, $df=3$, $P < 0.01$ and $F_{3,116}=3.48$, $P=0.018$ respectively, see Fig. 1 to 4). Moreover floral display size of *E. plantagineum* was significantly higher in presence of belowground interactions (C+) with *C. album* compared to plants without competition (C-) while the opposite pattern was found in competition with *H. lanatus* (K-W $\chi^2=20.58$, $df=1$, $P < 0.01$ and K-W $\chi^2=41.98$, $df=1$, $P < 0.01$). These significant contrasted effects of belowground competition within mixtures suggest an interaction between competition and competitor identity. Likewise, this interaction was significant for total flower production ($\chi^2=19.59$, $df=3$, $P < 0.01$). The date also had an impact on daily flower production, floral display size and flower size (all $P < 0.01$) especially with a decrease of flower size across time.

Nectar traits

The competition treatment had no influence on any of the nectar traits except for the daily sucrose concentration ($F_{3,36}=2.95$, $P=0.05$). Competitor identity had an influence on daily and total indices only (i.e when flower production was taken into account, see Material and Methods, section “Nectar traits”). Both daily volume and sucrose indices tended to decrease along the competitive gradient (however marginal for daily volume index $F_{3,36}=2.95$, $P=0.05$; $F_{3,36}=3.74$, $P=0.02$ for daily sucrose index). Especially, these two variables increased in presence of *C. album* (even compared to monocultures). However the presence of *H. lanatus*

induced a decrease of those traits. The same pattern was found during the whole flowering period when considering total volume and sucrose indices ($F_{3,35}=7.79$, $P<0.01$ and $F_{3,32}=9.90$, $P<0.01$ respectively, Fig. 5 and Fig. 6). We found no effect of the competition:competitor interaction. For daily measurements, there was a significant effect of the date (all $P<0.01$) with an increase of daily nectar volume, daily sucrose amount, daily volume index and daily sucrose index across time while daily sucrose concentration decreased.

Pollinator visits

First visit

Within each mixture, the competition treatment did not influence the first visit of a bumblebee on a pot (χ^2 , all $P>0.05$). However, in all mixtures there was a tendency for more first visits on pots in which focal plants were not submitted to belowground competition (except for mixtures with *C. album*). Likewise first visits tended to be made more rapidly on *E. plantagineum* in presence of *C. album* and *A. capillaris* compared to monocultures and mixture with *H. lanatus*, however not significantly (Likelihood ratio test=6.83, $df=3$, $P=0.08$, Fig. 7).

Total number of visits

Depending on mixture type, only 31% to 46% of observations lead to visits ($N_{CH}=12$, $N_{EC}=11$, $N_{AG}=13$, $N_{HO}=10$). There was no overall impact of the competitor identity on the total number of visits received by *E. plantagineum* (K-W $\chi^2=6.21$, $df=3$, $P=0.10$, Fig. 8). This variable was neither influenced by the competition treatment (whatever the competitor, K-W $\chi^2=0.04$, $df=1$, $P=0.84$, Fig. 8). Moreover the apparent contrasted effects of competition within mixtures was not significant (K-W, $\chi^2=2.48$ $df=3$, $P=0.48$, Fig. 8).

Visit sequences

Competition treatment and competitor identity had no influence on the distribution of visits across time (all $P > 0.05$). However the number of visits received by a plant of *E. plantagineum* was affected by time (K-W $\chi^2 = 71.66$, $df = 3$, $P < 0.01$). Bumblebee made a greater number of visits on the focal plant between 30 and 40 minutes compared to the 10 first minutes.

DISCUSSION

In this experiment we investigated if competition, especially belowground, induced by the presence of wind-pollinated species could influence pollinator visits on an insect-pollinated plant through modifications of floral traits involved in fine attractiveness. Our results demonstrated that competitor identity can influence floral traits involved in attractiveness while the effect of belowground competitive status depended on competitor identity for some traits. The effect on pollinator visits, however, is tenuous.

Competitive interactions

As expected, we found differences in biomass allocation according to the neighbouring context of the focal plant, *E. plantagineum*. Globally, it produced greater biomass in mixtures with *C. album* (even greater than in monoculture for aboveground biomass) in opposition to mixtures with *H. lanatus*. In presence of belowground competition, the associated $\ln RR$ values suggested a panel of interactions from “facilitative” (with *C. album*) to strongly competitive (with *H. lanatus*). These results are in accordance with Flacher *et al.* (2015) which found a similar pattern, although they did not controlled belowground competition. In this study the significant competition:competitor interaction for all biomass and $\ln RR$

variables suggest a different effect of belowground competition among mixtures. Indeed, the presence of belowground interactions had a positive effect on all biomass and lnRR values in presence of *C. album* (compared to the same mixtures without competition) while belowground competition with *H. lanatus* had a negative effect. Moreover, *E. plantagineum* produced a greater amount of aboveground biomass in presence of *C. album* than in monocultures. However we cannot talk about facilitation *per se* as this process implies a modification of the soil environment by the facilitative species. Instead, the positive effect of *C. album* might be due to the relative small amounts of above- and belowground biomass it produced: when the dividers were open (C+) the focal species probably had more space than in monocultures or in absence of competition. This could have led to a greater access to resources, enabling more allocation to biomass production. The opposite pattern was observed in presence of *H. lanatus* when dividers were open. This wind-pollinated can produce great amount of biomass, especially belowground (here from 10 to 20 times more compared to *C. album*, but see also Flacher *et al.*, 2015). Even though biomass allocations and competitive abilities are not always associated, it has been reported that larger plants can be greater competitors through resource depletion or space occupancy (Raynaud & Leadley, 2004, Gurevitch *et al.*, 2006). Therefore, the presence *H. lanatus* could have limited the access of *E. plantagineum* to soil resources leading to a decrease in biomass production for the latter. Besides, even if we took care to limit plant overlapping, we cannot deny that *E. plantagineum* experimented aboveground competition as well. However, in plant communities, belowground competition is often more important than aboveground competition, especially with grass competitors (Kiaer *et al.*, 2013). Moreover, pairwise comparisons revealed that there were no significant differences of biomass production or lnRR values in absence of belowground competition. This suggests that, if indeed there was aboveground competition, it was of the same intensity whatever the competitor. The only exception concerns lnRR values

calculated on aboveground biomass with differences among the two extremes of the panel: consequently, *H. lanatus* probably induced aboveground competition on *E. plantagineum* as well (e.g. through shading) while *C. album* did not. It would be interesting in future experiment to study aboveground competition might as well, in order to discriminate the influence of both sources of competition.

Finally, the observed negative effect of *C. album* on belowground and total biomass in absence of competition was not expected. *C. album* can have an allelopathic effect on other plants (Batish *et al.*, 2006) especially through shoot residues (Qasem & Hill, 1989). We can hypothesize that in absence of belowground competition *C. album* had an allelopathic effect on *E. Plantagineum* by limiting its growth through leaves residues on soil for instance. However in presence of belowground competition with *C.album*, this effect might have been counterbalanced by a greater access to soil and resources.

Floral traits involved in attractiveness to pollinators

Competitor identity had a negative influence on flower production, floral display size, flower size and nectar indices but not on daily nectar production. Several studies showed that floral traits involved in attractiveness to pollinators can be sensitive to modifications of resource availability: the addition of nutrients in soil (nitrogen, phosphorous, or through litter, Muñoz *et al.*, 2005; Burkle & Irwin, 2009,2010 ;Baude *et al.*, 2011, Soper-Gorden & Adler, 2013) as well as water irrigation (Petanidou *et al.*, 1999), can lead to an increase in flower and/or nectar production. Indeed such resources can play a key role in plant metabolic pathways (Gurevitch *et al.*,2006), especially those involved in the production of flowers and their associated rewards. Moreover nitrogen is a key component of pollen and nectar (through proteins and amino-acids, Dafni, 1992). It is therefore consistent that competition, which causes resource depletion (Casper & Jackson, 1997), has a negative influence on floral and

nectar traits. Several studies showed that allocation to reproductive structures can be negatively affected by competition (Weiner 1988, Nötzold *et al.* 1997). Likewise, floral display size, flower size, total flower production and total amount of sugar allocated to nectar can be affected by the presence of competitor species, whether it is insect-pollinated or wind-pollinated (Baude *et al.*, 2011, Partzsch & Bachmann, 2011, Flacher *et al.*, 2015). Especially Flacher *et al.* (2015) found that the stronger the wind-pollinated competitor, the stronger the decrease. In our study, *E. plantagineum* probably had greater access to resources in mixture with *C.album* leading to an increase in allocation to both flower and nectar traits. On the contrary, mixtures with *H. lanatus* may have led to resource depletion in pots inducing a decrease in both sets of traits.

Concerning the effect of competition, because of contrasted effect of belowground competition between mixtures according to biomass measurements of *E. plantagineum*, it was expected to find no overall impact of the competition treatment on floral traits (the only exception is daily sucrose concentration). However, we hypothesized that the influence of belowground competition would rise through an interactive effect with the competitor identity. All traits followed the same pattern as biomass with greater to lower traits in presence of belowground competition with *C. album* and *H. lanatus* respectively, however not significantly (except for floral display size and total flower production). The absence of such interaction for most traits was unexpected. This suggests that, within each mixture, *E. plantagineum* allocate the same amount of energy to the production of attractiveness traits, whatever its belowground competitive status with neighbours. One explanation would be that there was a trade off in energy allocation between vegetative and reproductive structures (Obeso, 2002): because *E. plantagineum* complete its life cycle within a year, it may favour energy allocation to reproductive parts (such as flowers and associated rewards) to ensure its reproductive success, leading to a trade off with vegetative structures (such as biomass).

Therefore energy allocation to vegetative parts might suffer more from competition. However, floral display size and total flower production did suffer from competition. As rewards ensure the repetition of visits on a plant (Dafni, 1992), one strategy for *E. plantagineum* in conditions of competition could be to favour smaller floral display size but with constant reward production at the flower level. The fact that we observed a significant effect of competitor identity on nectar production at the plant level and on the whole flowering period (daily and total nectar indices) was mostly due to modifications of flower production. Flacher *et al.* (2015) found the same pattern for two annual species, including *E. plantagineum*, with no impact of competition on daily nectar production but a negative influence at the plant level and on the whole flowering period. These results suggest a strong importance of flower production for plant attractiveness. The study of *L. purpureum*, another annual insect-pollinated plant that was initially part of the experimental design but that never bloomed, could have confirmed such conclusions. Moreover, other traits involved in attractiveness to pollinators such as flower colour and pollen quantity or quality might be worth studying as they can be sensitive to resource availability (Lau & Stephenson, 1993, 1994; de Pascual & Sanchez-Ballesta, 2008).

Pollinator visits

We found no effect of the belowground competitive status on the first visit choice. The number of open flower (or floral display size) is one of the cues pollinators rely on to assess plant attractiveness. As we decided to choose pots with a similar number of flowers between both competition statuses (with and without competition) for every observation in order to focus on fine attractiveness, this result was then expected. However we hypothesized that other floral traits might be used by pollinators. For instance flower size or flower colour can be involved in pollinators' choice (Conner & Rush, 1996; Elle & Carney, 2003; Chittka &

Thompson, 2001). However there were no significant differences in flower size of *E. plantagineum* according to belowground competitive status. Even though flower colour investigation might be needed to conclude properly, we can assume that the absence of clear visual cues, such as differences in floral display size, did not allow bumblebees to discriminate among plants with different belowground competitive status. As there were differences in flower production and floral display size among mixtures it could be interesting in future experiments to evaluate their influence on pollinator visits in a context of competition. The time to first visit did not differ according to competitors' identity. Again we expected differences among mixtures as competitors are part of a panel of contrasted interactions. For instance, in mixtures with *C. album*, because *E. plantagineum* produced bigger flowers and the competitor smaller amount of biomass, we assumed that bumblebees would make their choice more rapidly as flowers would be easier to discriminate. Either these differences were too small (only 2 mm) to act as cues for pollinators, either they use other cues for their first visits (such as floral display size that was controlled here).

For the total number of visits, the lack of a competition effect was not surprising according to our results for nectar traits. Indeed, the repetition of visits on a plant relies on reward quantity and quality (Dafni, 1992). In our study there was neither an overall nor an interactive effect of competition on most nectar traits (except for daily sucrose concentration). As there was no strong differences between pots with or without competition (or maybe too small for daily sucrose concentration, $[\text{sucrose}]_{C+} = 534.66 \text{ g.L}^{-1}$ and $[\text{sucrose}]_{C-} = 503.17 \text{ g.L}^{-1}$) pollinators visited plants of *E. plantagineum* equally within each mixtures. The lack of effect of the competitor identity was more unexpected as there were differences of floral and nectar traits between plant treatments. This underlines that significant differences in floral traits does not necessarily lead to differences in pollinator visits. The observed modifications of floral and

nectar traits might not have been strong enough to induce contrasted pollinator foraging behaviours between plant treatments. Dividing each observations in four sequences of 10 minutes to study the distribution of visits across time did not bring more information about the influence of both competition and competitor identity.

Overall, these conclusions are made on a relative small number of observations. Indeed, only 31% to 42% of observations lead to visits. In the rest of the observations, the focal pollinator was flying or stayed immobile on the nylon mesh of the cage. Some studies indicate that *E. plantagineum* is visited by *B. terrestris* in natural conditions (Dupont & Skov, 2004). Moreover, as foraging experience can modify innate pollinator preferences (Weiss 1997, Chittka & Thompson, 2001), we took care of working with naïve bumblebees so it would not interfere in bumblebee visits to *E. plantagineum*. Therefore, we were expecting numerous visits on our focal plant. Several hypotheses were tested to understand why we were encountering such difficulties to observe visits: 1) the flying arena was exported outdoor as we suspected the glass of the greenhouse to filter UV light, a part of the light spectrum used by hymenopterans for visual detection (Chittka *et al.*, 1994) 2) colonies were put in the flying arena for habituation to avoid stress and 3) starvation duration was modulated. In spite of all these trials, we still had difficulties to record observations with active visits. One hypothesis would be that, in spite of all the care we took to the colonies, they were not in good conditions to visit the focal plant. The alternative hypothesis would be that the density of flowers in the flying arena was relatively low. As contrast with the green background can be important for flower detection (Chittka & Raine, 2006), a small number of flowers might have reduced the ability of bumblebees to discriminate them from the green background we set up to mimic outdoor conditions. Finally, reward production can be negatively (Devlin *et al.*, 1987) or positively (Pyke, 1978) influenced by flower age. Additional measurements on 2 days and 3 days aged flowered revealed that nectar volume and nectar concentration tend to be lower

compared to new flowers, especially in presence of belowground interactions. In consequences, as we could not offer only newly open flowers to bumblebees, contrast of floral and nectar traits among mixtures might have been diluted by flower age leading, to the absence of differences in the number of visits.

To resume, we showed that the presence of a wind-pollinated plant can influence floral traits though its identity. The effect of belowground competition however is contrasted and probably depend in competitor identity, especially for flower production and floral display size. The modification of reward production at the plant level and on the whole flowering period but not at the flower level suggest that competition for resources might not influence fine attractiveness traits. Instead, in presence of competition, plant attractiveness to pollinators might be more influenced through modification of visual cues such as flower production and floral display size. However, in this study we focused on only one pollinator species. In nature, most insect-pollinated species interact with a whole community of pollinators that may have different preferences (Lunau, 1995; Chittka & Thompson, 2001) and so different responses to floral and nectar traits modifications. Future research should therefore focus on field experiment to study the effect of competition induced by wind-pollinated plants on wild pollinator visits through modification of insect-pollinated attractiveness traits.

Aknowledgment

This work was supported by a grant from the Ile-de-France region through the DIM R2DS program. We are grateful to all the members of the CEREEP Ecotron Ile-de-France. We are thankful to Océane Vincent for her help on the field. A special thanks to Martin Perrigault who gave us precious advices for the maintenance of bumblebee colonies.

REFERENCES

- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01
- Batish, D. R., Singh, H. P., Rana, N., & Kohli, R. K. (2006). Assessment of allelopathic interference of *Chenopodium album* through its leachates, debris extracts, rhizosphere and amended soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 52(6), 705-715.
- Baude, M., Dajoz, I., & Danchin, É. (2008). Inadvertent social information in foraging bumblebees: effects of flower distribution and implications for pollination. *Animal Behaviour*, 76(6), 1863-1873.
- Baude, M., Leloup, J., Suchail, S., Allard, B., Benest, D., Mériguet, J., Nunan, N., Dajoz, I. & Raynaud, X. (2011). Litter inputs and plant interactions affect nectar sugar content. *Journal of Ecology*, 99, 828-837.
- Bell, J. M., Karron, J. D., & Mitchell, R. J. (2005). Interspecific competition for pollination lowers seed production and outcrossing in *Mimulus ringens*. *Ecology*, 86(3), 762-771.
- Brown, B. J., & Mitchell, R. J. (2001). Competition for pollination: effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia*, 129(1), 43-49.
- Burkle, L. A., & Irwin, R. E. (2009). The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology*, 203(1), 83-98.
- Burkle, L.A. & Irwin, R.E. (2010). Beyond biomass: measuring the effects of community-level nitrogen enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. *Journal of Ecology*, 98, 705-717.
- Cardoza, Y.J., Harris, G.K. & Grozinger, C.M. (2012). Effects of soil quality enhancement on pollinator-plant interactions. *Psyche: a journal of entomology*, 2012, 1-8.
- Casper, B.B. & Jackson, R.B. (1997). Plant competition underground. *Annual review of Ecology and Systematics*, 28, 545-570.
- Chittka, L., Shmida, A., Troje, N., & Menzel, R. (1994). Ultraviolet as a component of flower reflections, and the colour perception of Hymenoptera. *Vision research*, 34(11), 1489-1508.
- Chittka, L., & Thomson, J. D. (2001). Cognitive ecology of pollination. *Animal behaviour and floral evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Chittka, L., & Raine, N. E. (2006). Recognition of flowers by pollinators. *Current opinion in plant biology*, 9(4), 428-435.
- Conner, J.K. & Rush, S. (1996). The effect of flower size and number on pollinator visitation to wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia*, 105, 509-516.

- Dafni, A. (1992). *Pollination Ecology: A Practical Approach*. IRL press at Oxford university press, New York.
- Devlin, A.B., Horton, J.B., Stephenson, A.G., Devlin, B., Horton, J.B. & Stephenson, A.G. (1987). Patterns of nectar production of *Lobelia cardinalis*. *The American Midland Naturalist*, **117**, 289–295.
- Dupont, Y. L., & Skov, C. (2004). Influence of geographical distribution and floral traits on species richness of bees (Hymenoptera: Apoidea) visiting *Echium* species (Boraginaceae) of the Canary Islands. *International Journal of Plant Sciences*, *165*(3), 377-386.
- Elle, E. & Carney, R. (2003). Reproductive assurance varies with flower Size in *Collinsa parviflora* (Scrophulariaceae). *American journal of botany*, **90**, 888–896.
- Flacher, F., Raynaud, X., Hansart, A., Motard, E., & Dajoz, I. (2015). Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species. *Scientific reports*, *5*.
- Harder, L. D., & Cruzan, M. B. (1990). An evaluation of the physiological and evolutionary influences of inflorescence size and flower depth on nectar production. *Functional Ecology*, 559-572.
- Herrera, C.M., Pérez, R. & Alonso, C. (2006). Extreme intraplant variation in netcar sugar composition in an insect-pollinated perennial herb. *American journal of botany*, **93**, 575–581.
- Kandori, I., Hirao, T., Matsunaga, S. & Kurosaki, T. (2009). An invasive dandelion unilaterally reduces the reproduction of a native congener through competition for pollination. *Oecologia*, **159**, 559–69.
- Kearns, C.A. & Inouye, D.W. (1993). *Techniques for Pollination Biologists* (ed University Press of Colorado). Niwot Colorado.
- Kiaer, L.P., Weisbach, A.N. & Weiner, J. (2013). Root and shoot competition: a meta-analysis. *Journal of Ecology*, **101**, 1298–1312.
- Grindeland, J.M., Sletvold, N. & Ims, R.A. (2005). Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology*, **19**, 383–390.
- Gurevitch, J., Scheiner, S.M. & Fox, G.A. (2006). *The Ecology of Plants*, Second edition (ed Sinauer Associates Inc.Publishers). Sunderland Massachusetts.
- Lanza, J., Smith, G. C., Sack, S., & Cash, A. (1995). Variation in nectar volume and composition of *Impatiens capensis* at the individual, plant, and population levels. *Oecologia*, *102*(1), 113-119.
- Laverty, T.M. (1992). Plant interactions for pollinator visits: a test of the magnet species effect. *Oecologia*, **89**, 502–508.

- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1993). Effects of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size, and pollen performance in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany*, 763-768.
- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1994). Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction*, 7(4), 215-220.
- Lunau, K., & Maier, E. J. (1995). Innate colour preferences of flower visitors. *Journal of Comparative Physiology A*, 177(1), 1-19.
- Makino, T.T., Ohashi, K. & Sakai, S. (2007). How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant? *Functional Ecology*, 21, 87–95.
- Mitchell, R.J., Karron, J.D., Holmquist, K.G. & Bell, J.M. (2004). The influence of *Mimulus ringens* floral display size on pollinator visitation patterns. *Functional Ecology*, 18, 116–124.
- Mitchell, R. J., Flanagan, R. J., Brown, B. J., Waser, N. M., & Karron, J. D. (2009). New frontiers in competition for pollination. *Annals of Botany*, 103(9), 1403-1413.
- Miyake, Y.C. & Sakai, S. (2005). Effects of number of flowers per raceme and number of racemes per plant on bumblebee visits and female reproductive success in *Salvia nipponica* (Labiatae). *Ecological Research*, 20, 395–403.
- Molina-Montenegro, M. a., Badano, E.I. & Cavieres, L. a. (2008). Positive interactions among plant species for pollinator service: assessing the “magnet species” concept with invasive species. *Oikos*, 117, 1833–1839.
- Muñoz, A.A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L.A. & Arroyo, M.T.K. (2005). Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, 143, 126–35.
- Muñoz, A.A. & Cavieres, L.A. (2008). The presence of a showy invasive plant disrupts pollinator service and reproductive output in native alpine species only at high densities. *Journal of Ecology*, 96, 459–467.
- Nötzold, R., Blossey, B., & Newton, E. (1997). The influence of below ground herbivory and plant competition on growth and biomass allocation of purple loosestrife. *Oecologia*, 113(1), 82-93.
- Obeso, J. R. (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*, 155(3), 321-348.
- Partzsch, M. & Bachmann, U. (2011). Is *Campanula glomerata* threatened by competition from expanding grasses? Results from a 5-year pot-experiment. *Plant Ecology*, 212, 251–261.
- de Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health.

Phytochemistry reviews, 7(2), 281-299.

- Petanidou, T., Goethals, V. & Smets, E. (1999). The effect of nutrient and water availability on nectar secretion and nectary structure of the dominant Labiatae species of phrygana. *Systematics and Geography of Plants*, **68**, 233–244.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team (2015). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_. R package version 3.1-122, <URL: <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- Pyke, G. H. (1978). Optimal foraging in bumblebees and coevolution with their plants. *Oecologia*, 36(3), 281-293.
- Qasem, J. R., & Hill, T. A. (1989). Possible role of allelopathy in the competition between tomato, *Senecio vulgaris* L. and *Chenopodium album* L. *Weed Research*, 29(5), 349-356.
- Raynaud, X. & Leadley, P.W. (2004). Soil characteristics play a key role in modeling nutrient competition in plant communities. *Ecology*, **85**, 2200–2214
- Soper-Gorden, N.L. & Adler, L.S. (2013). Abiotic conditions affect floral antagonists and mutualists of *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). *American Journal of Botany*, **100**, 679–689.
- Stout, J. C., & Goulson, D. (2001). The use of conspecific and interspecific scent marks by foraging bumblebees and honeybees. *Animal behaviour*, 62(1), 183-189.
- Therneau, T. M. & Grambsch, P.M. (2000). Modeling Survival Data: Extending the Cox Model_. Springer, New York. ISBN 0-387-98784-3.
- Velthuis, H. H., & Van Doorn, A. (2006). A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37(4), 421.
- Weigelt, A. & Jolliffe, P. (2003) Indices of plant competition. *Journal of Ecology*, **91**, 707–720.
- Weiner, J. A. C. O. B. (1988). The influence of competition on plant reproduction. *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*, 228-245.
- Weiss, M.R. (1997). Innate colour preferences and flexible colour learning in the pipevine swallowtail. *Animal Behaviour*, **53**, 1043–1052.

Figure 1: Mean floral display size of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences between plant treatments (normal for the “without” competition treatment, bold for the “with competition” treatment). The stars represent the significant effect of competition within plant treatments.

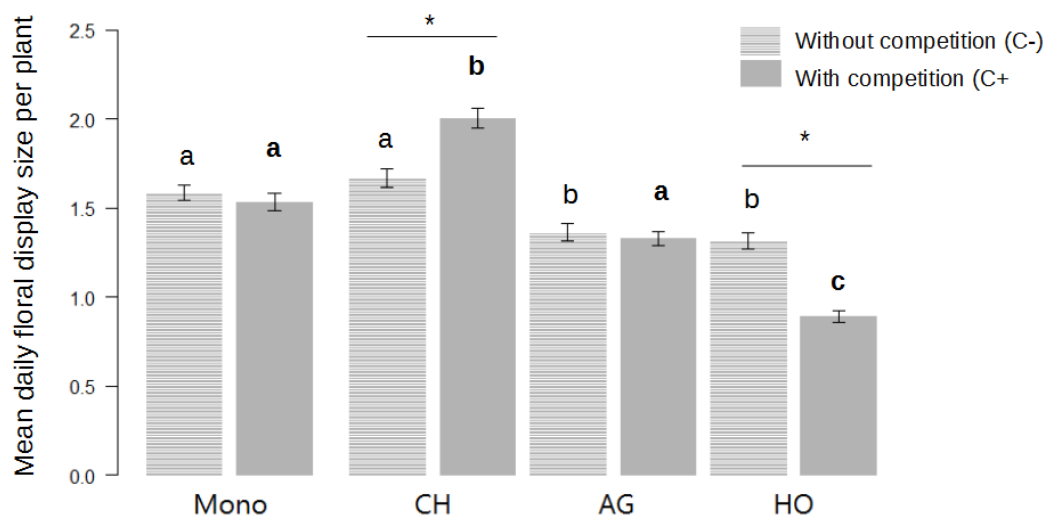


Figure 2: Mean daily flower production of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences between plant treatments (normal for the “without” competition treatment, bold for the “with competition” treatment). The stars represent the significant effect of competition within plant treatments.

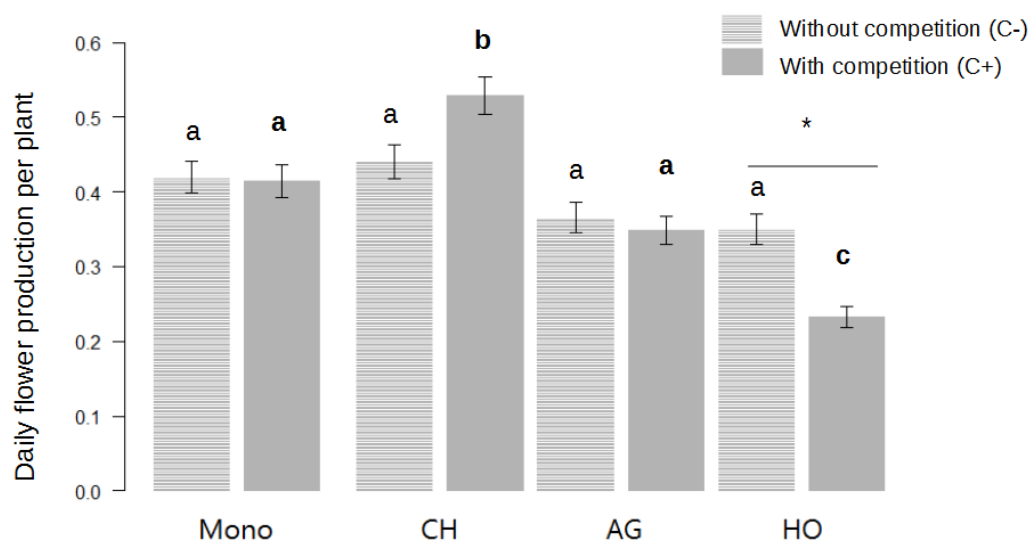


Figure 3: Mean total flower production of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences between plant treatments (normal for the “without” competition treatment, bold for the “with competition” treatment). The stars represent the significant effect of competition within plant treatments.

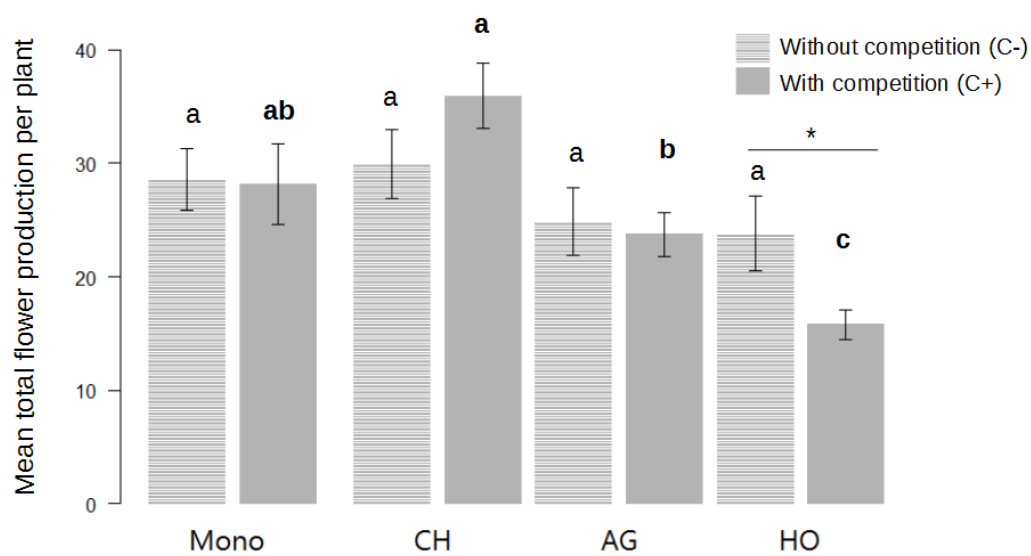


Figure 4: Mean flower size (mm) of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences between plant treatments (normal for the “without” competition treatment, bold for the “with competition” treatment).

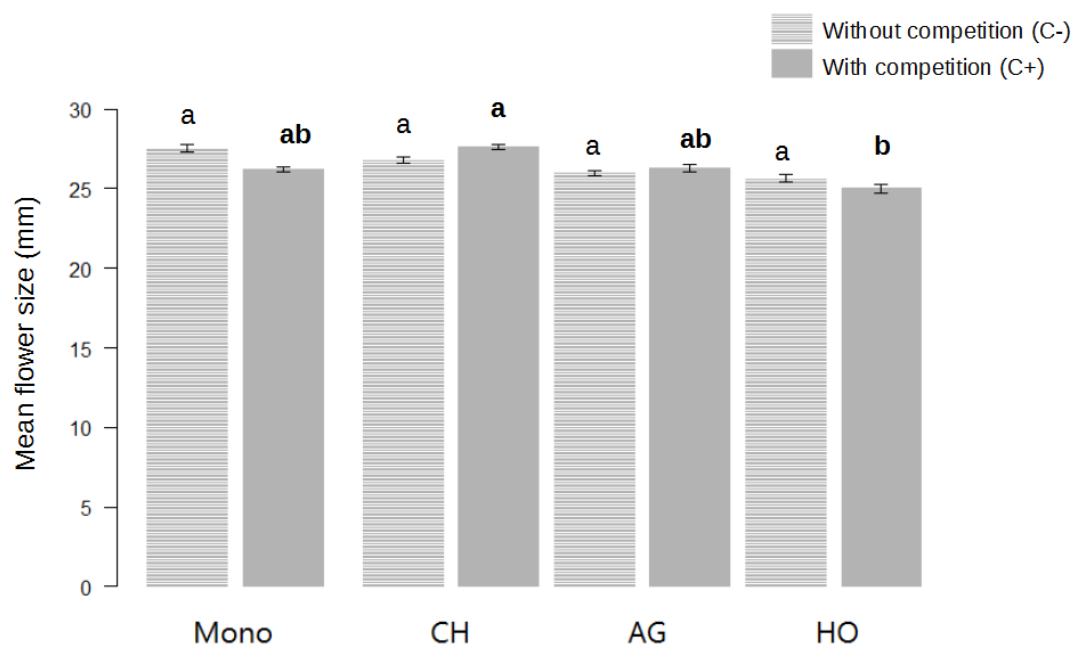


Figure 5: Mean total volume index of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences between plant treatments (normal for the “without” competition treatment, bold for the “with competition” treatment).

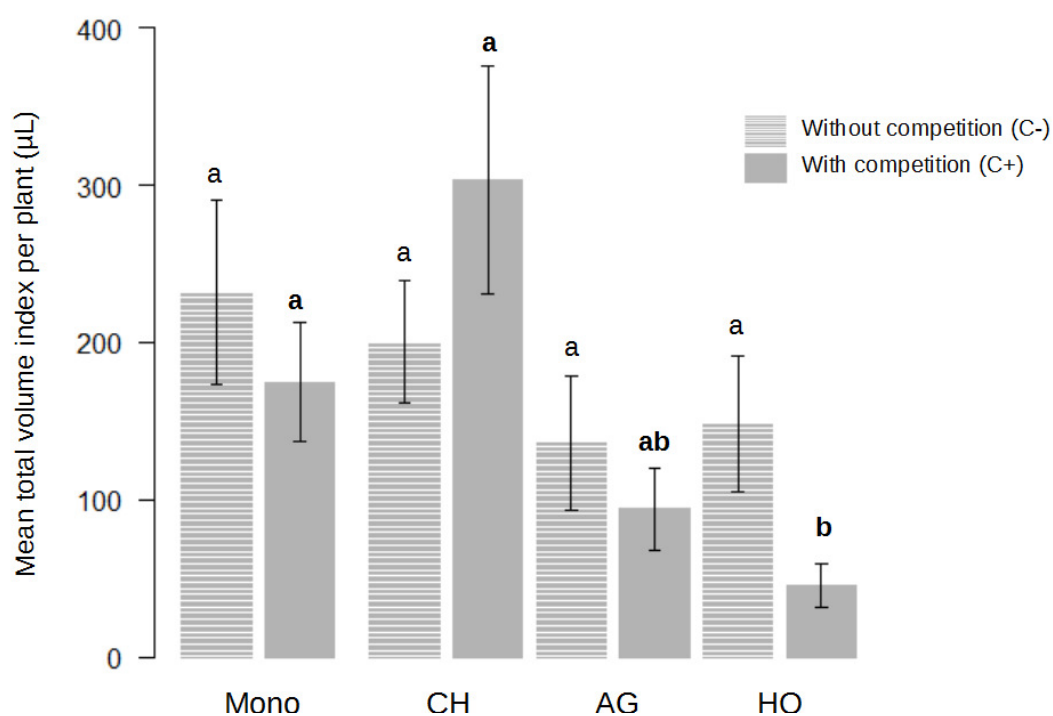


Figure 6: Mean total sucrose index of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences between plant treatments (normal for the “without” competition treatment, bold for the “with competition” treatment).

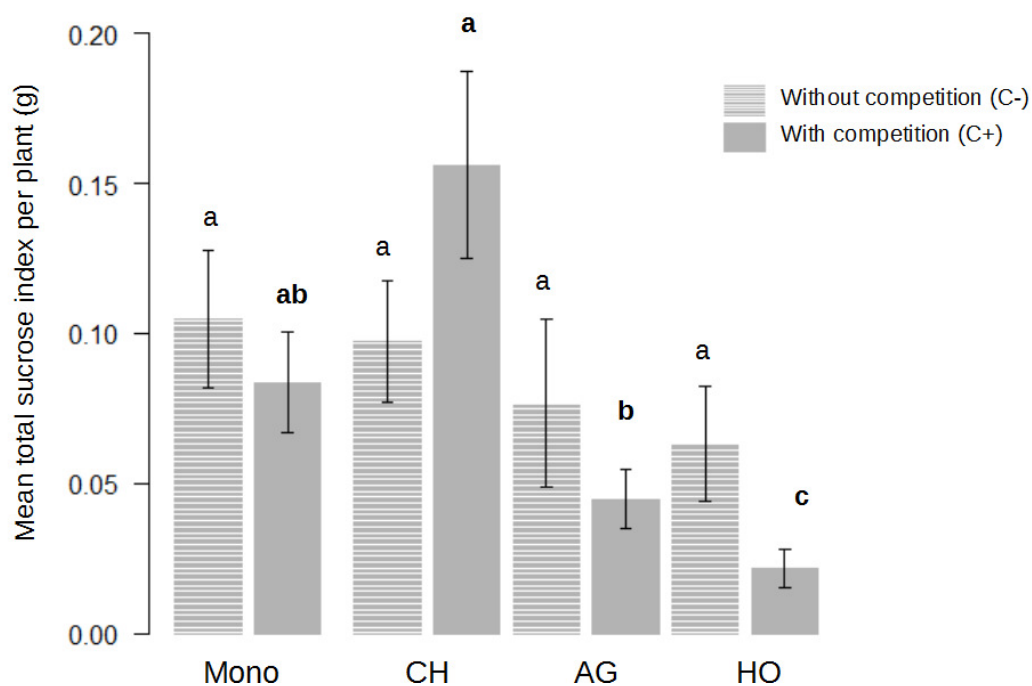


Figure 7: Time to first visit on *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum*.

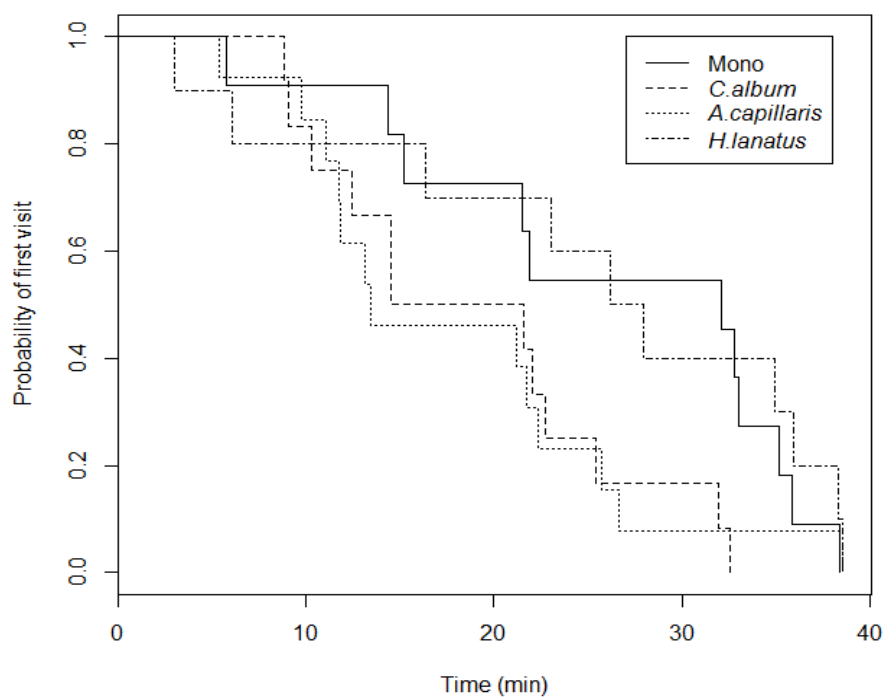


Figure 8: Mean number of visits on *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition (full grey, without competition C-; hatched grey, with competition C+) and competitor identity. “Mono” refers to monocultures of *E. plantagineum* and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). Different letters indicate significant differences.

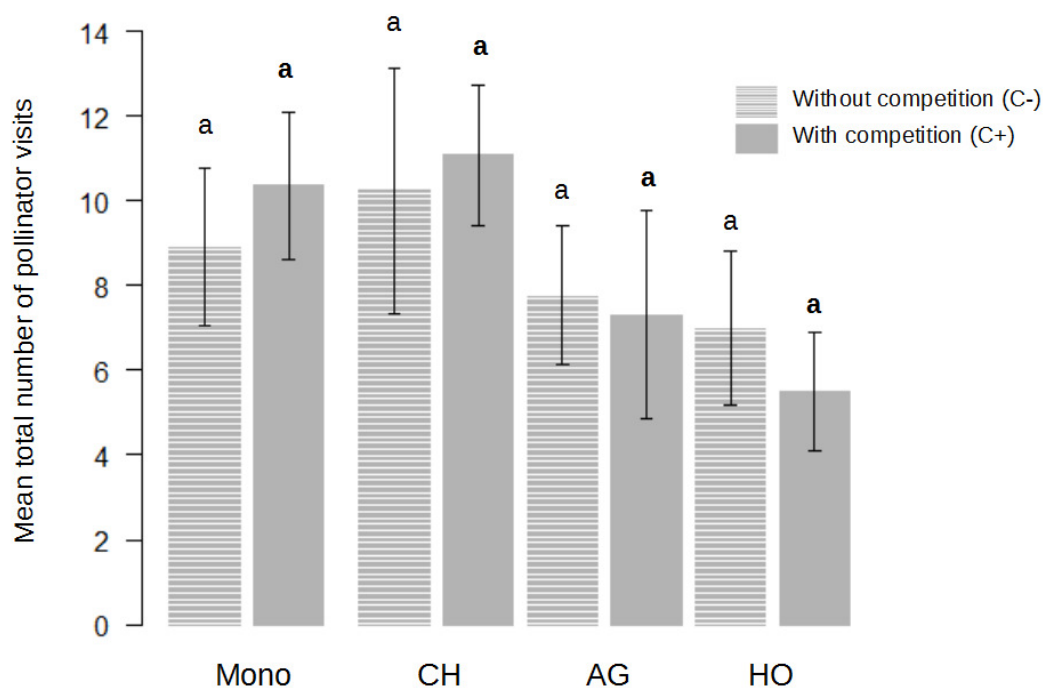


Table 1: Anova table for biomass measurements and lnRR values

		Fixed effect	Fvalue	Pvalue
Floral traits pots				
Aboveground (N=120)	biomass	Competition	F _{1,32} =0.09	0.77 n.s
		Competitor	F _{3,32} =14.74	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,32} =5.71	<0.01
Belowground (N=120)	biomass	Competition	F _{1,32} =0.07	0.79 n.s
		Competitor	F _{3,32} =5.21	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,32} =7.05	<0.01
Total biomass (N=120)		Competition	F _{1,32} =0.19	0.67 n.s
		Competitor	F _{3,32} =14.80	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,32} =8.78	<0.01
Aboveground (N=1800)	lnRR	Competition	F _{1,32} =0.25	0.62 n.s
		Competitor	F _{3,32} =63.21	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,32} =24.48	<0.01
Belowground (N=1800)	lnRR	Competition	F _{1,32} =10.29	<0.01
		Competitor	F _{3,32} =5.89	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,32} =8.04	<0.01
Total lnRR (N=1800)		Competition	F _{1,32} =8.89	<0.01
		Competitor	F _{3,32} =36.57	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,32} =21.75	<0.01
Visited pots				
Aboveground (N=240)	biomass	Competition	F _{1,72} =3.25	0.08 n.s.
		Competitor	F _{3,72} =12.77	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,72} =4.96	<0.01
Aboveground (N=7199)	lnRR	Competition	F _{1,72} =1.44	0.23 n.s
		Competitor	F _{3,72} =22.56	<0.01
		<i>Interaction</i>	F _{3,72} =8.89	<0.01

Table 2: Mean ln RR values (+/-standard error) per treatment for *E. plantagineum* in monocultures and mixtures with the wind-pollinated competitor (C+ “with competition”, C- “without competition”).

		lnRR values			
	Competition	Mono	Mixture <i>C. album</i>	Mixture <i>A. capillaris</i>	Mixture <i>H. lanatus</i>
Floral traits pots					
Aboveground biomass	c+	0 (+/- 0.003)	0.453 (+/- 0.002)	-0.150 (+/- 0.002)	-0.710 (+/- 0.002)
Belowground biomass	c+	0 (+/-0.004)	0.036 (+/-0.003)	-0.459 (+/-0.003)	-1.292 (+/-0.004)
Total biomass	c+	0 (+/-0.002)	0.289 (+/-0.002)	-0.273 (+/-0.001)	-0.899 (+/-0.002)
Aboveground biomass	c-	0 (+/- 0.0008)	0.043 (+/-0.001)	-0.161 (+/-0.001)	-0.215 (+/-0.002)
Belowground biomass	c-	0 (+/-0.003)	-0.159 (+/-0.002)	-0.063 (+/-0.003)	0.0212 (+/-0.003)
Total biomass	c-	0 (+/-0.001)	-0.192 (+/-0.001)	-0.145 (+/-0.001)	-0.151 (+/-0.001)
Visited pots					
Aboveground biomass	c+	0 (+/-0.0008)	0.387 (+/-0.0008)	0.009 (+/-0.0004)	-0.442 (+/-0.0004)
Aboveground biomass	c-	0 (+/-0.0004)	0.203 (+/-0.0004)	-0.115 (+/-0.0003)	-0.176 (+/-0.0004)

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Supplementary Table S1: Plant species description¹⁻³ (Family names are given according to APG III classification⁴) From Flacher *et al.* 2015

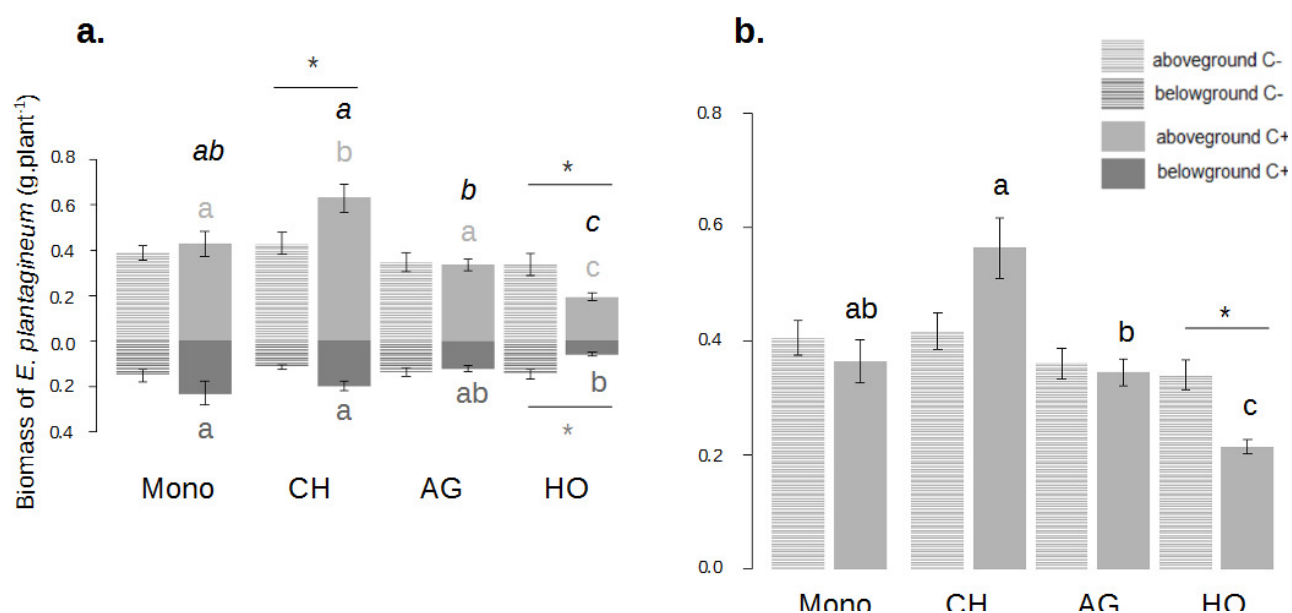
** focal insect-pollinated species initially integrated in the experimental design but that never bloomed

Plant species	Status	Life cycle	Habitat	Habitat preference based on Ellenberg values ⁵	Other characteristics
Insect-pollinated species					
<i>Echium plantagineum</i> L. (Boraginaceae)	native to the western Mediterranean basin spontaneous in the region	annual or biennial	along coasts, sandy places	full light intermediate fertility intermediate pH	violet tubular flowers mainly pollinated by honeybees, bumblebees, butterflies
<i>Lamium purpureum</i> L. (Lamiaceae)**	native to the region	annual	grasslands, forest hedges	intermediate light high fertility intermediate pH	pink tubular flowers mainly pollinated by honeybees, bumblebees
Wind-pollinated species					
<i>Agrostis capillaris</i> L. (Poaceae)	native to the region	perennial	grasslands, wastelands	intermediate light intermediate fertility low to intermediate pH	
<i>Chenopodium album</i> L. (Amaranthaceae)	native to the region	annual	grasslands, wastelands	intermediate to full light high fertility intermediate pH	
<i>Holcus lanatus</i> L. (Poaceae)	native to the region	perennial	grasslands, wastelands	intermediate to full light intermediate fertility intermediate pH	

REFERENCES of Supplementary information

1. Coste, H. "Flore de la France." *Paris: Librairie des Sciences Naturelles* (1901).
2. Hanley, M. E. & Goulson, D. Introduced weeds pollinated by introduced bees : Cause or effect ? *Weed Biol. Manag.* **3**, 204–212 (2003).
3. Free, J. The flower constancy of bumblebees. *J. Anim. Ecol.* **39**, 395–402 (1970).
4. Chase, M. W., Reveal, J. L., Hortoria, L. H. B., Biology, P. & Building, M. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* **161**, 122–127 (2009).
5. Hill, M., Mountford, J., Roy, D. & Bunce, R. *Ellenberg's indicator values for British plants. ECOFACT Volume 2 Technical Annex.* (1999).

Figure S1: Mean biomass (g) of *E. plantagineum* (+/- s.e.) per plant according to competition and competitor identity: a. aboveground and belowground biomass in “traits pots”, b. aboveground biomass only in “visited pots”. “Mono” refers to monocultures and wind-pollinated species are ordered according to increasing intensity of competitive interactions (see Results, CH: mixtures with *C. album*, AG: mixtures with *A. capillaris*, HO: mixtures with *H. lanatus*). When indicated different letters indicate significant differences between plant treatments. Stars represent significant differences within plant treatment. For the panel a. light grey is for aboveground biomass, dark grey is for belowground biomass and black is for total biomass.



V. Chapitre 3

*« Le papillon, ce billet doux plié
cherche une adresse de fleur »*

Jules Renard, Histoires naturelles 1894

Chapitre 3 - Compétition entre plantes pour les ressources du sol et conséquences sur l'attraction de pollinisateurs sauvages

Présentation du chapitre :

A l'issue du chapitre 2, il semble que l'attractivité réelle d'une plante aux pollinisateurs ne soit pas influencée par la présence d'espèces compétitives anémophiles, et ce principalement par une relative constance de la production de récompenses, la vitrine florale ayant été contrôlée. Une question reste en suspens : quels sont les effets de la vitrine florale et de la production de fleurs sur le nombre de visites reçues par une espèce focale en conditions de compétition pour les ressources du sol ? Dans le chapitre 2, ces variables se sont avérées sensibles à la présence d'espèces anémophiles et plus particulièrement en conditions de compétition pour les ressources du sol. De tous les traits étudiés au cours du chapitre 2, il est probable que l'écran floral soit le trait influençant principalement le nombre de visites reçues par une plante focale et donc son attractivité aux pollinisateurs. Par ailleurs, au cours du chapitre 2, nous nous sommes focalisés sur l'étude d'une plante focale et d'un pollinisateur. Or, la réponse des plantes à des modifications de la disponibilité des ressources peut être espèce-dépendante. De même la sensibilité et la réponse des pollinisateurs à des variations de traits floraux peuvent varier d'un groupe de pollinisateurs à l'autre.

Ainsi ce chapitre 3 se place à l'échelle de la communauté de plantes mais aussi de pollinisateurs. Il vise à déterminer si des modifications de la vitrine florale (et plus largement de la production de fleurs) chez des espèces focales, via des interactions de compétition avec une espèce anémophile, peuvent influencer leur attractivité aux pollinisateurs sauvages. Nous avons notamment cherché à savoir si les préférences des pollinisateurs peuvent être modulées par le contexte de compétition dans lequel se trouve la plante visitée. Par ailleurs, ce chapitre essaie d'aller plus loin en s'intéressant également à la fécondité des espèces focales (Fig. 4).

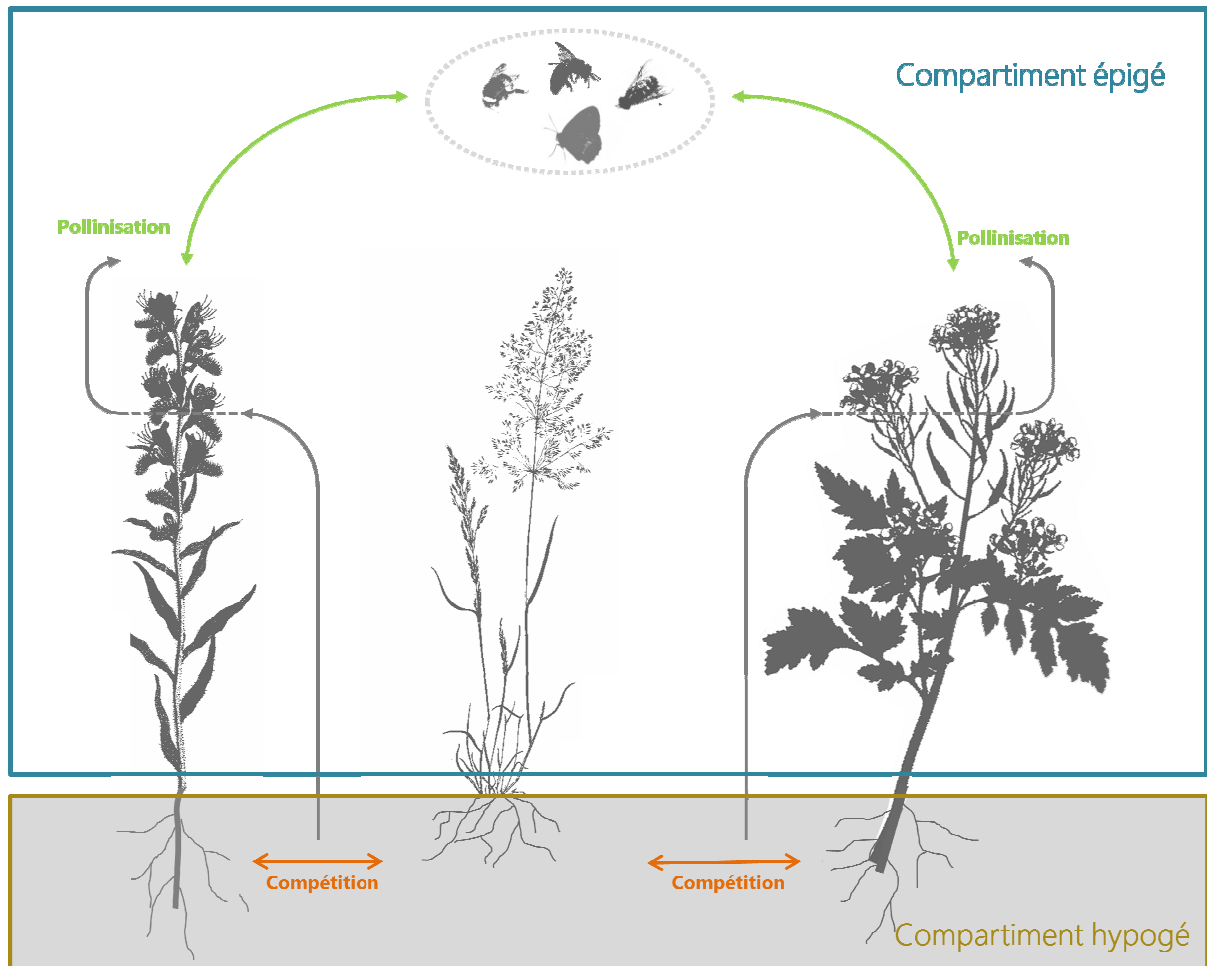
Dans cet objectif, une troisième expérimentation, au champ, a été mise en place. Deux espèces focales entomophiles, *Echium plantagineum* et *Sinapis alba*, ont été choisies sur la base de morphologies florales distinctes afin d'attirer des groupes fonctionnels distincts de pollinisateurs. Néanmoins, seule *S. alba* a pu être étudiée. Ces espèces ont été mises ou non en compétition pour les ressources du sol avec une espèce anémophile compétitive, *Holcus lanatus*. Les communautés de plantes ont été installées dans des cages en toile afin de

contrôler la pollinisation. Pour chaque observation, la toile était soulevée afin de laisser la faune pollinisatrice sauvage visiter les plantes *S. alba*. Le temps avant la première visite, le nombre de visites (totales et sur des séquences de 5min) ainsi que la diversité des visites ont été étudiés. En parallèle et afin de pouvoir relier les visites aux traits floraux, la production de fleurs et l'écran floral ont été étudiés tout au long de l'expérience. La taille des fleurs et la production de nectar (volume et concentration) ont de nouveau été mesurés, notamment car nous changions de conditions initiales (serre vs champ) et que nous n'avions aucune donnée pour *S. alba*. Enfin les fruits et graines ont été récoltés à la fin de l'expérience afin d'estimer la fécondité de *S. alba*.

Ce chapitre 3 confirme l'effet négatif que *H. lanatus* peut avoir sur des espèces entomophile focales. En effet, la compétition hypogée induite par la présence de cette espèce anémophile a affecté à la fois des structures végétatives et reproductrices de *S. alba*. Ainsi la biomasse, la hauteur de tige mais aussi la production de fleur, la vitrine florale et la taille des fleurs sont autant de traits qui ont diminué en présence de compétition hypogée. Alors que la production de nectar n'a pas été affectée. En réponse à ces modifications de traits d'attractivité, nous avons pu observer une diminution du nombre de visite de pollinisateur reçue par *S. alba* à l'échelle individuelle et à l'échelle une parcelle, en condition de compétition pour les ressources du sol. La diversité des visites quant à elle n'a pas été influencée. Ainsi, une modification des traits floraux en présence d compétition pour les ressources du sol peut également influencer le comportement de visites de pollinisateurs sauvages. Les conséquences sur la fécondité sont quant à elles plus faibles : seul le nombre d'ovules non fécondés était plus important en conditions de compétition, modifiant ainsi le rapport de fécondité de *S. alba*

Les résultats du Chapitre 3 suggèrent que la présence d'une espèce anémophile compétitrice puisse influencer les interactions plantes-pollinisateurs, via des interactions de compétition pour les ressources du sol. L'effet semble principalement se produire via une modification de la production de fleur et de la vitrine florale plutôt que via les récompenses produites qui restent relativement constantes quelque soit le traitement.

Figure 4 : Cadre d'étude du Chapitre 3



Belowground competition induced by wind-pollinated species influence attractiveness of an insect-pollinated plant, *S. alba*, to wild pollinators.

Floriane Flacher¹, Amandine Hansart², Benoit Geslin³ & Isabelle Dajoz⁴ / Xavier Raynaud⁵

Author affiliations:

¹ CNRS, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, Institute of Ecology and Environmental Sciences - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris

² CNRS, UMS 3194 CEREAP-Ecotron Ile de France, F-77140 Saint-Pierre-lès-Nemours

³ Université Aix Marseille Université, Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale 9 (IMBE) CNRS, IRD, Avignon Université Pôle St Jérôme av. Escadrille N. Niemen 13397 Marseille cedex 20

⁴ Université Paris Diderot Paris 7, Institute of Ecology and Environmental Science - Paris, UMR 7618, 7 Quai St Bernard, F-75005 Paris

⁵ Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6, Institute of Ecology and Environmental Science - Paris, UMR 7618, 46 rue d'Ulm, F-75005 Paris

ABSTRACT

Competitive interactions between plants are known to affect both vegetative (e.g. biomass) and reproductive structures (e.g. flowers). However as many plants also interact with pollinators, modifications of floral traits through plant competition could have a strong influence on plant-pollinator interactions. While some studies demonstrated a decrease in floral and nectar traits of insect-pollinated plant in presence of a competitor plant species, the impact on wild pollinators has never been investigated to our knowledge. To do so, we set up a field experiment in which we confronted an insect-pollinated species, *Sinapis alba* to belowground competition with a wind-pollinated plant, *Holcus lanatus*. Traits of *S. alba* involved in attractiveness to pollinators (i.e. flowers and nectar) were measured as well as pollinator visits. Fruits and seeds were also studied to assess the fecundity of *S. alba*. Belowground competition induced by *H. lanatus* had a significant negative effect on daily and total flower production, daily floral display size and flower size. However daily nectar traits were not affected. The total number of pollinator visits received at the plot level and at the plant level decreased in presence of belowground competition, with a positive correlation to floral traits. Therefore the observed decrease of pollinators visits on *S. alba* is associated to the modifications of floral traits induced by competition. For the fecundity of *S. alba*, however, the number of unfertilized ovules increased in presence of belowground competition, suggesting pollen limitation. This study demonstrate that pollination networks might be modulated by competitive interactions between plants, even with non insect-pollinated species.

INTRODUCTION

In the current context of global change, plant and insect pollinator communities are submitted to increasing pressures of anthropogenic origin such as climate change, habitat fragmentation, agricultural practices or biological invasions (Potts *et al.*, 2010), leading to a parallel decline (Biesmeijer *et al.*, 2006) and strong modifications of plant-pollinator networks (Memmott *et al.*, 2007; Aizen *et al.*, 2008). Interactions between insect-pollinated plant and their pollinators depend on the production of floral traits such as visual or olfactory cues attracting pollinators seeking for trophic resources (Dafni, 1992; Proctor *et al.*, 1996). These cues are generally related to flower characteristics such as their number, size, color or scent and their associated rewards (*i.e.* pollen and nectar). Therefore, the attractiveness of a plant depends on pollinators' preferences. Indeed most pollinators have innate preferences for flower colours (Lunau & Maier, 1995), scents (Dobson, 2006) or morphologies (Rodriguez *et al.*, 2004). Likewise, most insect pollinators tend to visit more plant species displaying large flowers (Conner & Rush 1996), large floral display (Mitchell *et al.*, 2004) or greater rewards (Cnaani *et al.*, 2006). Moreover, such preferences can be modulated by their foraging experience. For example, most bee species are able to learn associations between floral traits and the reward status of a plant (Weiss, 1997; Chittka & Thompson, 2001). As a result, plant species that are identified as more attractive are more visited. This is of special importance at the plant community level: the individual plant attractiveness depends on the attractiveness of other plant species of the community that display floral traits of varying attractiveness to pollinators. For example, many studies on invasive plant species showed that the presence of a showy and/or highly rewarding non native plant species in a plant community can lead to a decrease in pollinator visit on less attractive species (Muñoz & Cavieres, 2008). Subsequent reproductive success can in turn be reduced by such modifications of plant attractiveness to

pollinators (Brown *et al.*, 2002; Kandori *et al.*, 2009). In addition to modifying pollinator visits, the composition of plant communities can also influence the identity and diversity of pollinators (Lazaro *et al.*, 2009) than can in turn affect plant fruit and seed set (Albrecht *et al.*, 2012). Therefore, the neighbouring context of a plant species can have great consequences on its reproductive success in a community.

If the neighbouring context of a plant can alter its reproductive success through competition for pollinators, it can also influence individual plant attractiveness through competition for soil resources. Indeed, some studies showed that attractiveness traits (such as flowers size and numbers as well as reward quantity and quality) are sensitive to soil resource availability with positive effects of nutrient addition (e.g. nitrogen, phosphorous; Lau & Stephenson, 1994 ; Muñoz *et al.*, 2005; Burkle & Irwin, 2009; Burkle & Irwin, 2010, Soper-Gorden & Adler, 2013), soil amendments (i.e. litter, vermicompost, Baude *et al.*, 2011; Cardoza *et al.*, 2012) or irrigation (Petanidou *et al.*, 1999) and negative effects of competitive interactions with plant neighbours (Partzsch & Baschmann, 2011; Baude *et al.*, 2011). In particular, Flacher *et al.* (2015) demonstrated that the presence of wind-pollinated competitors could alter several floral parameters such as floral display size, total flower production and total amount of sucrose allocated to nectar of insect-pollinated focals. Especially, they showed that the impact on these floral traits and associated rewards was stronger as competition intensity increased. Because floral traits are closely linked to the foraging behaviour of pollinators we can assume that plant competition for soil resources could have a bottom-up effect on plant-pollinator interactions which could, in return, alter the reproductive success of insect-pollinated species. However, to our knowledge, the impact of competition for soil resources between plants on pollinator behaviour and the subsequent plant fecundity, through modifications of floral traits, has not been investigated yet. In this study we set up a field experiment in which we submitted or not an insect-pollinated plant (*Sinapis alba*) to competition for soil resources

with a wind-pollinated plant (*Holcus lanatus*). We followed plant attractiveness along the flowering period (flower production, floral display size, flower size, nectar production) as well as pollinator visits. At the end of the experiment, fruits and seeds were collected to estimate plant fecundity. Through this experiment our objectives were to answer the following question: how does belowground competition affect 1) floral traits involved in plant attractiveness to pollinators, 2) pollinators visits and 3) subsequent plant fecundity, all at the plot and the plant level? We expected belowground competition to have a negative effect on pollinator visits and subsequent plant fecundity through modifications of floral traits involved in attractiveness to pollinators.

MATERIAL AND METHODS

Plant species

Insect-pollinated species

Sinapis alba is an annual forb that grows along roads, in wastelands or near crops (CR strategist, Kühn *et al.*, 2004). It is considered naturalized in the Ile-de-France region, where the experiment took place (CBNBP, 2016). It is an obligate outcrossing species (Olsson, 1960 ; Cheng *et al.*, 2012). From May to July, it produces yellow open flowers that can be visited by honey bees and *Bombus* species (Corbet 1978) as well as shorter-tongued pollinators like solitary bees (Dukas & Schmida, 1989) or hoverflies (Kunin, 1993). Fruits are siliques containing less than 8 seeds (Jauzein, 2011).

Competition mixture

Sinaps alba was grown in mixture with two other species: *Holcus lanatus* and *Echium*

vulgare. *Holcus lanatus* is a wind-pollinated perennial grass that grows in grasslands, wastelands, or along road crops (C strategist, Kühn *et al.*, 2004). It produces great biomass and can negatively affect floral traits involved in attractiveness to pollinators of insect-pollinated species through competitive interactions (Flacher *et al.*, 2015). *Echium vulgare* is a biannual species that grows along roads (CR strategist, Kühn *et al.*, 2004). It is insect pollinated when flowering. However, due to its biannual life cycle, none of the plant individuals bloomed during the experiment. Therefore, we focused on *Sinapis alba* for the study of attractiveness to pollinators.

Experimental set-up

The experiment took place in a grassland site (CEREAP Ecotron Ile-de-France, Saint Pierre lès Nemours, FRANCE) with sandy soil (pH =6). Before setting up the experimental plots, the top 10 cm of soil was ploughed and steam-sterilized to remove the seed bank and existing vegetal material (e.g. plant stolons), that could both interfere with experimental treatments.

In March 2014, 20g of *Holcus lanatus* seeds per experimental plots (0.9x0.9m) were sown. In April 2014, 12 seedlings of *Sinapis alba* and *Echium vulgare* were planted in each experimental plot along parallel diagonals. Belowground competition was controlled thanks to PVC tubes (30cm deep) buried in plots to isolate *S. alba* roots from other root systems. Two treatments were set up: 1. the “without competition” treatment (C-) plots in which roots of *Sinapis alba* are isolated from competition and 2. the “with competition” treatment (C+) plots in which roots of *Sinapis alba* are not isolated from competition (see supplementary information, Fig. S1). These treatments were organized in blocks and replicated 5 times, for a total of 10 experimental plots. All experimental plots were enclosed in a nylon mesh cage (2x2x2m, 950µm mesh) to prevent flowers from uncontrolled pollination outside of experimental surveys. When necessary, all plots were watered. Aboveground competition

induced by the competition mixture was limited thanks to regular cuts of aboveground biomass of *Holcus lanatus* (10-15cm high, all experimental plots at the same time).

Measures of floral and nectar traits of *Sinapis alba*

For each plant, the time to first flowering was recorded. This date was also used to calculate the duration of flowering until the last produced flower. Flower production of each plant individual was assessed every day (except for weekends) along the flowering period: newly opened flowers were marked and counted. At the same time, the total number of opened flowers per day, defined here as the floral display size, was estimated. Additional traits (flower size and nectar traits) were measured, on a maximum of 6 flowers, randomly selected on 3 plants (3 plants, 2 flowers per plant). These measurements were made 1) on newly opened flowers to limit variations of flower size and reward production induced by flower age (Southwick & Southwick 1983) and 2) before each behavioural observation to avoid a shortage due to pollinator foraging. No measurements were made if the number of newly open flowers was insufficient (*i.e.* less than 3 newly open flowers) so pollinators could have resources to seek. Flower size was estimated on the selected flowers (see above) by measuring the width of their corolla between the tip of two opposed petals (mm) with a digital calliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe). The floral display size was also checked before each observation in case of newly open flowers between the measurement of flower production and the observation.

Concerning nectar traits, we measured the volume of nectar and its sugar concentration on the selected flowers (6 at most, see above). Nectar was sampled using calibrated microcapillary tubes (0.5µL, 32mm- Minicaps end to end, Hirschmann Laborgeraete). Right after sampling nectar volume was estimated by measuring the length of liquid in the microcapillary with a digital calliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe). Nectar sugar concentration was measured

using hand-held refractometers (Eclipse 45-81 and Eclipse 45-82, Bellingham+ Stanley Ltd.). When nectar volumes were too small, samples were diluted with MilliQ water (Millipore Corporation) before measurement. Because refractometers were calibrated at 20°C with a solution of pure sucrose, we will refer to sucrose equivalent (rather than sugar content) in the following.

Measures of the fecundity of *Sinapis alba*

In all plots, at the end of the flowering period, fruits were collected. Because of fruit herbivory and late harvest, we were not able to estimate the total number of fruit produced per plant. However, for each plant we measured the length (mm) and weight (mg) of six fruits at most (randomly chosen among intact fruits) when possible. After being dried (see below, Plant height and biomass), fruits were measured from the bottom to the top of the silique with a digital calliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe) and weighted (mg) on a microbalance (Pioneer OHAUS). For each sampled fruit, seeds were counted, weighted (after being dried) on a microbalance (mg) and their diameter was measured (mm) with a digital calliper (Digit-Cal MK IV, Brown&Sharpe) by taking the hilum (former attachment of the ovule to the ovary) as a reference point. For each fruit, the number of unfertilized ovules as well as aborted seeds was also counted. Based on these numbers, we calculated a “fecundity ratio” by dividing the number of viable seeds by the total number of ovules (i.e. sum of viable, aborted seeds and unfertilized ovules). Therefore this ratio varies from 0 to 1 (from no ovules to all ovules leading to viable seeds).

Plant height and biomass

In all plots, we measured the height of four plants (randomly chosen, cm) along the experiment (at 8, 35, 63 days). Moreover, at the end of the experiment, aboveground as well

as belowground biomass of each possible insect-pollinated individual was weighed after being oven-dried (72h, 65°C).

Behavioural observations

Before each behavioural observation, and after floral and nectar traits were measured, the nylon mesh cage was lifted up, allowing wild pollinators to visit the plot. Observations were made to the naked eye, therefore pollinators were divided into easily recognizable groups: honeybees (*Apis mellifera*), solitary bees, bumblebees (*Bombus* spp), butterflies, syrphids, other diptera and beetles. A session of behavioural observation began with the first visit of a pollinator on a plant. Then, during 20 minutes, every floral visit was noted to the plant individual level. Visits made by the same individual pollinator or by different individuals of the same group were not discriminated. At the end of the session, the nylon mesh cage was put back and any remaining pollinator was removed from the cage. The time between the lifting of the nylon cage and the first visit was also recorded to determine a time to first visit on plots. We waited 30 minutes maximum for a first visit before stopping an observation session. To have a greater overview, we focused on the total number of visits (on the experiment) received at plot and plant levels. From the plant's point of view, the total number of visit is more likely to influence its fecundity, and therefore is of more interest than per observation visits. In order to estimate the diversity of visit an individual of *S. alba* could receive, we adapted Shannon diversity's and Piélou's evenness indices to our data following the formulas:

$$\text{Diversity index (D')} = - \sum (N_i/N) \log (N_i/N) \text{ (adapted from Shannon's)}$$

$$\text{Evenness index} = D'/D_{\max} = D' / \log (P) \text{ (adapted from Piélou's)}$$

where N_i corresponds to the number of visits made by one group of pollinators, N the total number of visits by all pollinators and P the number of pollinator groups. Meteorological

parameters (air temperature, air humidity, cloud cover and wind speed) that may influence pollinator foraging behaviour were recorded all along the experiment.

Data analysis

All statistical analysis were performed with R 3.2.2 (R core Team 2015). Plant stem height, plant biomass, flower size, nectar traits (i.e. volume, concentration and amount of sucrose), fruit size, fruit weight, seed size and seed weight were analysed using linear mixed models (lme, nlme package, Pinheiro *et al.*, 2015). Competition treatment was set as a fixed effect. As all meteorological parameters (air temperature, air humidity, cloud cover and wind speed) were correlated with each other and with the date, we used the date in the following as an integrative covariate in the case of daily measurements. This also enable taking into account for plant age and it was set as a fixed effect also for daily parameters. Plots and date were set as random effects as there were repeated measures. Data were transformed when necessary (square for flower size and square root transformations for nectar traits, fruit weight). All count data (floral display size, daily flower production, total flower production, visits, and seed number) as well as the fecundity ratio and indices of diversity and evenness were analysed using non parametric tests (Kruskal-Wallis) as generalized linear models did not fit well the data. As we could not test the effect for all explaining variables (i.e. competition treatment, pollinator type and date for daily variables) at the same time or for interactions, we performed a test for the overall effect of competition treatment, the effect of pollinator type among competition levels and the overall effect of the date (for daily measures). Moreover we did some pairwise test especially to study differences among pollinator types. Therefore, p-values were adjusted with the Holm method as we used subsets of the same dataset. For the time to first flowering and the time to first visit we used survival models, especially non-

parametric Cox proportional hazard regression models to test the effect of the competition treatment on the “risk” of first flowering and first landing across time (coxph, Survival package, Therneau & Grambsch, 2000). Finally we tested the association between floral traits and visits using Spearman rank correlation tests. Because of a strong edge effect, 1 plot of each treatment had to be removed from the experiment, leading to 8/10 studied plots in total. A total of 4450 flowers were counted from June, 12th to September, 11th 2014 with $N_{\text{no competition}} = 3827$ and $N_{\text{competition}} = 623$. Among these flowers, 131 were sampled for flower size and nectar measurements ($N_{\text{no competition}} = 97$, $N_{\text{competition}} = 34$). For behavioural observations, a total of 66 sessions were run from the 18th of June 2014 to the 31st of July 2014 with $N_{\text{no competition}} = 32$ (640min) and $N_{\text{competition}} = 34$ (680min).

RESULTS

Estimation of competitive interactions: plant growth and biomass

There was no significant effect of competition on stem height at the beginning of the experiment ($F_{3,30}=1.03$, $P=0.39$). However there was a significant effect of competition later in the experiment. ($F_{3,30}=17.27$, $P<0.01$, see supplementary information, Fig. S2). Indeed, after 63 days of growth, plants submitted to root competition had shorter stems than plant isolated from competition, meaning that the competitor mixture had a negative effect on the growth of *S. alba*. The same pattern was observed for aboveground and belowground biomass ($F_{1,6}=13.21$, $P=0.01$ and $F_{1,6}=34.59$, $P<0.01$ respectively). Moreover, stem height of *S. alba* was not influenced by the presence of *E. vulgare* (all $P>0.05$, see supplementary informations Fig. S2).

Impact of belowground competition on attractiveness to pollinators at the plot level

Flower traits

At the plot level, floral display size was significantly reduced by the competition treatment (K-W, $\chi^2=112.76$ df=1 $P<0.01$, Fig. 1). Plots were less attractive when plants of *Sinapis alba* were competing with *H. lanatus* for belowground resources, with fewer open flower per plots. Daily and total flower production of *S. alba* were also significantly reduced by competition (K-W, $\chi^2=117.29$ df=1 $P<0.01$ and K-W, $\chi^2=5.33$ df=1 $P=0.02$ respectively). There was also a significant effect of the date for daily variables ($P<0.05$) with a decrease 40 days after the beginning of the experiment.

Time to first visit

Belowground competition had a negative impact on the time to first visit on a plot ($Z=3.5$, $P<0.01$, Fig. 2). The first visit on a plot occurred in less than 10 minutes after the removal of the nylon mesh cage for all C- plots, whereas only 50% of C+ plot had their first visits during this time. Overall, if all C- plots were visited during behavioural observation rounds, 10% of C+ plots had no visit during the first 30min after nylon mesh removal.

Number of visits

First, as 97.7% of visits were made by solitary bees, hoverflies and bumblebees we focused on those 3 pollinator types among the 7 previously defined. Concerning, the total number of visits per plot, there was a tendency for fewer visits when *S. alba* was submitted to competition (K-W, $\chi^2=3$, df=1 $P=0.08$). There was an effect of the pollinator type on the total number of visits received by *S. alba* in absence of competition only (K-W, $\chi^2=7.38$, df=1 $P=0.02$). Especially, bumblebees did less visits compared to solitary bees and hoverflies. In

presence of competition however there was no difference in the distribution of visits among pollinator types.

Diversity of visits

There was no influence of the competition treatment on the diversity or evenness of visits at the plot level ($P > 0.05$ for both indices). In both plots with or without competition, plants of *S. alba* received relatively the same amount of visit from the different pollinators groups (Evenness index: $P_{C+} = 0.72 \pm 0.04$; $P_{C-} = 0.69 \pm 0.05$).

Impact of belowground competition on attractiveness to pollinators at the plant level

Flower traits

The time to first flowering as well as flowering duration were influenced by the competition treatment. Indeed, if plants of *S. alba* tended to flower first in presence of belowground competition, about 40% of plants had not bloomed yet 20 days after the beginning of the experiment and still 20% had not bloomed at all at the end of the experiment. In comparison, all plants of *S. alba* without belowground competition had bloomed by the 35th day of experiment ($Z = 2.08$, $P = 0.04$, Fig. 3). Moreover, plants of *S. alba* tended to have shorter flowering duration in the “with competition” treatment (K-W, $\chi^2 = 12.92$, $df = 1$, $P < 0.01$). Plants of *S. alba* produced fewer flowers and had a smaller flower display size in presence of belowground competition with *H. lanatus* (K-W, $\chi^2 = 523.01$, $df = 1$, $P < 0.01$ and K-W, $\chi^2 = 563.66$, $df = 1$, $P < 0.01$ respectively, Fig. 1 for floral display size). The total flower production was also negatively impacted by the competition treatment (K-W, $\chi^2 = 42.82$, $df = 1$, $P < 0.01$). In addition, plants of *S. alba* produced significantly smaller flowers in the “with competition” treatment ($F_{1,6} = 11.15$, $P = 0.02$). There was also a significant effect of the date for

the daily flower production, the floral display size and flower size (all $P < 0.05$).

Nectar traits

The daily nectar volume, the daily nectar concentration and the daily amount of sucrose allocated to nectar were not affected by the competition treatment (all $P > 0.05$). However there was a contrasted but significant effect of the date for all three variables (all $P < 0.01$). Along the experiment, daily nectar volume increased while daily amount of sucrose decreased leading to a decrease in nectar sucrose concentration.

Number of visits

At the level of plant individual, the total number of visits received per plant of *S. alba* all along the experiment was significantly lower in the “with competition” treatment than in the “without competition” treatment (K-W, $\chi^2 = 36.44$, $df = 1$ $P < 0.01$, Fig. 4). Moreover, among each treatment of competition, there was an influence of the pollinator type (without competition: K-W, $\chi^2 = 42.49$, $df = 1$ $P < 0.01$; with competition: K-W, $\chi^2 = 8.21$ $df = 1$ $P = 0.02$). Similarly to the plot level, the effect of competition seems to be mainly due to bumblebees visiting less *S. alba* plants than the other two groups of pollinators.

Fecundity of S. alba

At the end of the experiment, a total of 200 fruits were collected ($N_{\text{with competition}} = 47$ on 23 plants; $N_{\text{without competition}} = 153$ on 32 plants). There was no influence of the competition treatment on fruit size, fruit weight, seed number per fruit, seed size or seed weight (all $P > 0.05$) and a marginally non significant effect for fruit size $F_{1,6} = 4.80$, $P = 0.07$ and seed number K-W, $\chi^2 = 3.19$, $df = 1$, $P = 0.07$). On the other hand, belowground competition with *H. lanatus* had a negative influence on the fecundity ratio of *S. alba* (K-W, $\chi^2 = 12.73$, $df = 1$, $P < 0.01$, Fig. 5). This difference was mainly due to a greater number of unfertilized ovules for

plants in the “with competition” treatment (K-W, $\chi^2 = 4.67$ df=1, $P=0.03$).

Linking floral traits, pollinator visits and plant fecundity

There was a significant negative correlation between the floral display size and the time to first visit ($S=45.16 \times 10^3$, $P<0.01$, $\rho=-0.46$). When the floral display size increases, pollinators come more rapidly on the plot. There was also a positive correlation between the total flower production and the total number of visits at the plot level (however marginally significant, $S=22$, $P=0.05$, $\rho=0.74$). For each observation, the same pattern was observed between floral display size and the number of visits received by *S. alba*, at the plot level ($S=19.36 \times 10^3$, $P<0.01$, $\rho=0.60$).

DISCUSSION

In this study we wanted to test if the presence of a wind-pollinated species could influence the attractiveness to wild pollinators of an insect-pollinated species. Our results suggest that 1) belowground competition induced by the presence of *H. lanatus* negatively influenced the production of floral traits in *S. alba* and 2) these modifications in turn affected pollinator visits received by this focal plant. However, the effect on the fecundity of *S. alba* was less obvious.

In this study, we focused on the effect of the presence of *H. lanatus*, a wind-pollinated plant, while an insect-pollinated plant *E. vulgare* was also present in the competition mixture. This is justified as the presence of *E. vulgare* had no influence on the focal plant (here *S. alba*) whether on its vegetative (stem height) or reproductive structures (flower production, data not

shown). The competition induced by *H. lanatus* however was clear with the reduction of both biomass and floral traits of the insect-pollinated plant, *S. alba*. Indeed, floral traits such as flower production, floral display size and flower size tended to decrease in presence of belowground competition while daily nectar traits (volume, sucrose concentration and sucrose amount allocated to nectar) were not affected. A similar pattern was found for *E. plantagineum*, and *L. purpureum*, two annual insect-pollinated species whose attractiveness traits decreased in presence of a strong competitor (Flacher *et al.*, 2015, Flacher *et al.*, unpublished data). However, in the first study, belowground competition was not controlled and in the second study, the effect of belowground competition depended on the competitor identity. Nevertheless, in all cases, the presence of a wind-pollinated plant inducing competition (be it aboveground, belowground or both) decreased floral traits involved in plant attractiveness to pollinators. Flacher *et al.* 2015 suggest that, for some focal plants, belowground competition induced by a wind-pollinated competitor might be due to soil resources depletion (such as nutrients or space) leading to a decrease in vegetative (biomass, stem height here) and/or reproductive structures (flowers). The results obtained here by controlling belowground competition are in agreement with such assertion. Even though greater root biomass is not always associated to greater competitive abilities (Cahill 2003), larger plants such as *H. lanatus* can be advantaged especially through soil space occupation or nutrient acquisition (Gurevitch *et al.*, 2006, Raynaud & Leadley, 2004). As floral traits of insect-pollinated plant can be sensitive to soil resources amount (Muñoz *et al.*, 2005; Burkle & Irwin, 2009), a decrease of their production is expected in presence of a competitor plant. Concerning rewards, daily nectar traits remained constant whatever the competitive context. This pattern is consistent with some previous results (Flacher *et al.*, 2015, Flacher *et al.*, unpublished data). For annual species (such as *S. alba*) that have to reproduce within a season, one strategy to ensure reproductive success in an unfavourable environment might be to

maintain floral rewards constant. Indeed rewards quantity and quality have a strong influence on the repetition of pollinator visits on a plant (Dafni, 1992). The number of visits a plant receive can in turn influence pollen receipt (Engel & Irwin, 2003), ovule fertilization and hence seed production (Young & Stanton, 1990). Therefore, annual insect-pollinated plants might favour floral rewards rather than flower number, leading to a trade-off in the production of traits involved in attractiveness to pollinators. Some studies found an effect of competition on rewards at the plant level and on the whole flowering period. Indeed, for some insect-pollinated plants, the total amount of sucrose allocated to nectar (the product of mean sucrose amount per flower and total flower production per plant) as well as the total nectar volume (the product of mean nectar volume per flower and total flower production per plant) are reduced in presence of a competitor plant (Baude *et al.*, 2011; Flacher *et al.*, 2015) while they were not affected at the flower level (Flacher *et al.*, 2015). Therefore rewards might be affected by competition only if flower production is taken into account simultaneously. Such variables can be interesting to study plant-pollinator interaction as they can be associated to pollinator visits (Leiss & Klinkhamer, 2005). In our experiment, we were not able to calculate it as we did not follow nectar traits every day but only before an observation.

The positive correlations between floral traits (i.e. flower production and floral display size) and the number of visits confirm that, whether on the whole experiment or at each observation date, belowground competition can influence plant attractiveness to pollinators through modifications of floral traits. This is in accordance with many studies showing that pollinators (e.g. bees or hoverflies) tend to visit more plants with greater floral display size (Conner & Rush, 1996 ; Mitchell *et al.*, 2004 ; Grindeland *et al.*, 2005 ; Miyake & Sakai, 2005, Makino *et al.*, 2007). This parameter is likely to influence pollinator attraction at long-distance. Moreover, it can be a reliable cue for pollinators to assess if a plant is rewarding as floral

display size can be sometimes correlated to reward production (Harder & Cruzan, 1990). At the plant level, a greater floral display size can also be associated to lower movement costs between flowers and higher rewards as re-visitation might be low (Mitchell *et al.*, 2004)

For the fecundity of *S. alba*, the main result concerns the fecundity ratio, declining in presence of competition. This decrease was mainly due to more unfertilized ovules per fruits for plants in presence of belowground competition. As *S. alba* produced the same amount of total ovules (fertilized and unfertilized) in both competition levels, an increase in unfertilized ovules also means a decrease in fertilized ovules leading to seeds. This was represented by the tendency for seed number to be lower in presence of belowground competition. While the availability of soil resources can influence the number of seed produced per fruit (Campbell & Halama, 1993; Burkle & Irwin, 2009), our results suggest rather that the decrease of the fecundity ratio observed in presence of belowground competition could have been induced by modifications of pollinator visits (i.e. pollen limitation, Campbell & Halama, 1993; Ashman *et al.*, 2004). In this experiment, we did not discriminate the number of visits at the flower level. Therefore we could not test for correlation between the number of received visits per flowers and this number of unfertilized ovules per plants. However, some studies demonstrated that the number of visits a plant receives can influence seed set (Karron *et al.*, 2006). Likewise experiments of hand pollination showed that several plant species are pollen limited, producing fewer fruit and/or seed with inadequate pollen receipt (Ashman *et al.*, 2004). In our study, a greater amount of unfertilized ovules in conditions of belowground competition suggests that there might be some pollen limitation. Concerning fruit and seed morphometrical traits (i.e length and weight) we expected that competition would have a “direct” effect as soil resource availability (Campbell & Halama, 1993) and competition can influence seed traits (Weiner 1988, Aguiar *et al.*, 2001). However, we observed constancy in

those traits whatever the competition level. Seed size constancy has sometimes been interpreted as the result of developmental and/or morphological constraints (through canalization, Silvertown, 1989). Some authors have suggested that there is high inter- and intraplant variation among plant species, leading to apparent constancy in mean seed size (Fenner, 2012). Even though this was observed for very large samples, we did observe intra- and interplant variation for both competition levels in our study that could explain the absence of overall competition effect. The effect of competition through modification of visits number could have been greater on fruit number. Indeed several studies showed that fruit set depends on the number of received visits and pollen receipt (pollen limitation, Ashman *et al.*, 2004). However, both plant mortality along the experiment and late harvest lead to the impossibility to assess fruit number correctly. In future experiments this trait should be followed. Moreover, plant fecundity and more globally plant reproductive success is not only represented by fruit and seed sets. It would have been interesting to study the recruitment rate (number of juvenile plants / total number of seeds) of *Sinapis alba* according to the competition treatment.

In most of our conclusions above, we estimated that the competition induced was mainly belowground, for soil resources. Of course, we cannot deny that there was aboveground competition. However in most plant communities belowground competition is more important than aboveground competition (Casper & Jackson, 1997) especially when the competitor is a grass (Kiaer *et al.*, 2013). Moreover, we tried to limit aboveground competition through regular cuts of *H. lanatus*. Even if clipping or defoliation is susceptible to modify plants behaviour, several studies revealed a decrease in above- or belowground biomass, soil nutrient assimilation and even an increase in nitrogen availability in soil (Shahzad *et al.*, 2012; Youngner, 2012). Therefore, if the behaviour of *H. lanatus* was modified because of regular cuts it is likely that clipping reduced its natural competitive abilities leading to an

underestimation of its impact on *S. alba* here.

Conclusion:

Overall, our results demonstrate that the presence of a wind-pollinated plant species in a community, through competitive interactions among species, can impact the community's overall pollinator attractiveness. Most importantly, a wind-pollinated competitor can influence the attractiveness and reproductive success of a focal, insect pollinated plant species. In the current context of a biodiversity crisis, these results have potential strong implications for management practices aimed at preserving the diversity of both plant and pollinator communities.

Acknowledgments: This work was supported by a grant from the Ile-de-France region through the DIM R2DS program. We are grateful to all the members of the CEREAP Ecotron Ile-de-France. We also thank Séléné Verstraet, Elisa Rousset, Alice Gauthey, Manon Bataille and Ludovico St Amour di Chanaz for their help on the field and in the lab.

Author contributions statement: FF, XR and ID conceived and designed the study. FF, AH, ID and XR collected data. FF, XR and BG performed statistical analysis. FF wrote the first draft of the manuscript and all authors (FF, ID, AH, BG and XR) contributed substantially to revisions.

Additional information:

Competing financial interests: the author(s) declare no competing financial interests.

REFERENCES

- Aguiar, M.R., Lauenroth, W.K. & Peters, D.P. (2001) Intensity of intra- and interspecific competition in coexisting shortgrass species. *Journal of Ecology*, **89**, 40–47.
- Aizen, M.A., Morales, C.L. & Morales, J.M. (2008) Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLoS biology*, **6**, 396–403.
- Albrecht, M., Schmid, B., Hautier, Y. & Müller, C.B. (2012) Diverse pollinator communities enhance plant reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 4845–52.
- Albrecht, M., Schmid, B., Hautier, Y. & Müller, C.B. (2012) Diverse pollinator communities enhance plant reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 4845–52.
- Ashman, T.-L., Knight, T.M., Steets, J.A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Morgan, M.T. & Wilson, W.G. (2004) Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, **85**, 2408–2421.
- Baude, M., Leloup, J., Suchail, S., Allard, B., Benest, D., Mériguet, J., Nunan, N., Dajoz, I. & Raynaud, X. (2011) Litter inputs and plant interactions affect nectar sugar content. *Journal of Ecology*, **99**, 828–837.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, a P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., Settele, J. & Kunin, W.E. (2006) Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, **313**, 351–354.
- Brown, B.J., Mitchell, R.J. & Graham, S.A. (2002) Competition for pollination between an invasive species (Purple Loosestrife) and a native congener. *Ecology*, **83**, 2328–2336.
- Burkle, L.A. & Irwin, R.E. (2009) The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology*, **203**, 83–98.
- Burkle, L.A. & Irwin, R.E. (2010) Beyond biomass: measuring the effects of community-level nitrogen enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. *Journal of Ecology*, **98**, 705–717.
- Cahill, J. F. (2003). Lack of relationship between below-ground competition and allocation to roots in 10 grassland species. *Journal of ecology*, *91*(4), 532-540.
- Campbell, D. R., & Halama, K. J. (1993). Resource and pollen limitations to lifetime seed production in a natural plant population. *Ecology*, 1043-1051.
- Cardoza, Y.J., Harris, G.K. & Grozinger, C.M. (2012) Effects of soil quality enhancement on pollinator-plant interactions. *Psyche: a journal of entomology*, **2012**.

- Casper, B.B. & Jackson, R.B. (1997) Plant competition underground. *Annual review of Ecology and Systematics*, **28**, 545–570.
- Chittka, L. & Thomson, J.D. (2001) Cognitive Ecology of Pollination (eds L Chittka and JD Thomson).
- Cnaani, J., Thomson, J.D. & Papajà, D.R. (2006) Flower Choice and Learning in Foraging Bumblebees : Effects of Variation in Nectar Volume and Concentration. *Ethology*, **112**, 278–285.
- Conner, J.K. & Rush, S. (1996) The effect of flower size and number on pollinator visitation to wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia*, **105**, 509–516.
- Conservatoire Botanique National du Bassin Parisien. (2016) CBNBP. Available at: <<http://cbnbp.mnhn.fr/cbnp/>>
- Corbet, S.A. (1978) Bee visits and the nectar of *Echium vulgare* L. and *Sinapis alba* L. *Ecological Entomology*, **3**, 25–37.
- Dafni, A. (1992) *Pollination Ecology: A Practical Approach*. IRL press at Oxford university press, New York.
- Dobson, H. E. M. (2006). Floral fragrance composition and type of pollinator in *Biology of floral scent*. CRC Press.
- Dukas, R. & Schmida, A. (1989) Correlation between the color, size and shape of Israeli crucifer flowers and relationships to pollinators. *Oikos*, **54**, 281–286.
- Engel, E.C. & Irwin, R.E. (2003) Linking pollinator visitation rate and pollen receipt. *American journal of botany*, **90**, 1612–1618.
- Flacher, F., Raynaud, X., Hansart, A., Motard, E. & Dajoz, I. (2015) Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species. *Scientific reports*, **5**, 1–10.
- Flacher F., Hansart A., Motard E., Geslin B., Fofana A., Dajoz I. & Raynaud X. (unpublished). Does competition with wind-pollinated species alter *Echium plantagineum* attractiveness to a common pollinator, *Bombus terrestris*?
- Fenner, M. W. (2012). *Seed ecology*. Springer Science & Business Media.
- Grindeland, J.M., Sletvold, N. & Ims, R.A. (2005). Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology*, **19**, 383–390.
- Gurevitch, J., Scheiner, S.M. & Fox, G.A. (2006) *The Ecology of Plants*, Second edi (ed SA Inc.Publishers). Sunderland Massachusetts.
- Harder, L.D. & Cruzan, M.B. (1990) An evaluation of the physiological and evolutionary influences of inflorescence size and flower depth on nectar production. *Functional*

Ecology, **4**, 559–572.

Jauzein, P. (2011) *Flore Des Champs Cultivés*, 2e ed (ed Quae). versailles.

Kandori, I., Hirao, T., Matsunaga, S. & Kurosaki, T. (2009) An invasive dandelion unilaterally reduces the reproduction of a native congener through competition for pollination. *Oecologia*, **159**, 559–69.

Karron, J. D., Mitchell, R. J., & Bell, J. M. (2006). Multiple pollinator visits to *Mimulus ringens* (Phrymaceae) flowers increase mate number and seed set within fruits. *American Journal of Botany*, *93*(9), 1306–1312.

Kiaer, L.P., Weisbach, A.N. & Weiner, J. (2013) Root and shoot competition: a meta-analysis (ed D Gibson). *Journal of Ecology*, **101**, 1298–1312.

Kühn, I., Durka, W., & Klotz, S. (2004). BiolFlor: a new plant-trait database as a tool for plant invasion ecology. *Diversity and Distributions*, *10*(5/6), 363–365.

Kunin, W.E. (1993) Sex and the single mustard: population density and pollinator behavior effects on seed-set. *Ecology*, **74**, 2145–2160.

Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1994). Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction*, *7*(4), 215–220.

Lázaro, A., Lundgren, R., & Totland, Ø. (2009). Co-flowering neighbors influence the diversity and identity of pollinator groups visiting plant species. *Oikos*, *118*(5), 691–702.

Leiss, K.A. & Klinkhamer, P.G.L. (2005) Spatial distribution of nectar production in a natural *Echium vulgare* population: Implications for pollinator behaviour. *Basic and Applied Ecology*, **6**, 317–324.

Lunau, K., & Maier, E. J. (1995). Innate colour preferences of flower visitors. *Journal of Comparative Physiology A*, *177*(1), 1–19.

Makino, T.T., Ohashi, K. & Sakai, S. (2007). How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant? *Functional Ecology*, **21**, 87–95.

Memmott, J., Craze, P.G., Waser, N.M. & Price, M. V. (2007) Global warming and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology letters*, **10**, 710–7.

Mitchell, R.J., Karron, J.D., Holmquist, K.G. & Bell, J.M. (2004) The influence of *Mimulus ringens* floral display size on pollinator visitation patterns. *Functional Ecology*, **18**, 116–124.

Miyake, Y.C. & Sakai, S. (2005). Effects of number of flowers per raceme and number of racemes per plant on bumblebee visits and female reproductive success in *Salvia nipponica* (Labiatae). *Ecological Research*, **20**, 395–403.

- Morales, C.L. & Traveset, A. (2009) A meta-analysis of impacts of alien vs. native plants on pollinator visitation and reproductive success of co-flowering native plants. *Ecology letters*, **12**, 716–28.
- Muñoz, A.A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L.A. & Arroyo, M.T.K. (2005) Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, **143**, 126–35.
- Muñoz, A.A. & Cavieres, L.A. (2008). The presence of a showy invasive plant disrupts pollinator service and reproductive output in native alpine species only at high densities. *Journal of Ecology*, **96**, 459–467.
- Olsson, G. (1960) Self-incompatibility and outcrossing in rape and white mustard. *Hereditas*, **46**, 241–252.
- Partzsch, M. & Bachmann, U. (2011) Is *Campanula glomerata* threatened by competition from expanding grasses? Results from a 5-year pot-experiment. *Plant Ecology*, **212**, 251–261.
- Petanidou, T., Goethals, V. & Smets, E. (1999) The effect of nutrient and water availability on nectar secretion and nectary structure of the dominant Labiatae species of phrygana. *Systematics and Geography of Plants*, **68**, 233–244.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and R Core Team (2015). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_. R package version 3.1-122, Available online at: <<http://CRAN.Rproject.org/package=nlme>>.
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. & Kunin, W.E. (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution*, **25**, 345–53.
- Proctor, M., Yeo, P. & Lack, A. (1996) *The Natural History of Pollination* (ed Timber Press Inc.). Portland, Oregon.
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available online at: <https://www.R-project.org/>
- Raynaud, X. & Leadley, P.W. (2004) Soil characteristics play a key role in modeling nutrient competition in plant communities. *Ecology*, **85**, 2200–2214.
- Rodríguez, I., Gumbert, A., de Ibarra, N. H., Kunze, J., & Giurfa, M. (2004). Symmetry is in the eye of the ‘beeholder’: innate preference for bilateral symmetry in flower-naïve bumblebees. *Naturwissenschaften*, **91**(8), 374–377.
- Shahzad, T., Chenu, C., Repinçay, C., Mougin, C., Ollier, J.L. & Fontaine, S. (2012) Plant clipping decelerates the mineralization of recalcitrant soil organic matter under multiple grassland species. *Soil biology and biochemistry*, **51**, 73–80.
- Silvertown, J. (1989) The paradox of seed size and adaptation. *Trends in ecology & evolution*,

4, 24–26.

Soper-Gorden, N.L. & Adler, L.S. (2013) Abiotic conditions affect floral antagonists and mutualists of *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). *American Journal of Botany*, **100**, 679–689.

Southwick, A.K. & Southwick, E.E. (1983) Aging effect on nectar production in two clones of *Asclepias syriaca*. *Oecologia*, **56**, 121–125.

Therneau, T. M. & Grambsch, P.M. (2000). Modeling Survival Data: Extending the Cox Model_. Springer, New York. ISBN 0-387-98784-3.

Young, H.J. & Stanton, M.L. (1990) Influences of floral variation on pollen removal and seed production in wild radish. *Ecology*, **71**, 536–547.

Youngner, V.B. & McKell, C.M. (2012) Physiology of defoliation and regrowth. *The biology and utilization of grasses*, p. 446.

Weiner, J. (1988). The influence of competition on plant reproduction. *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*, pp. 228–245.

Weiss, M.R. (1997) Innate colour preferences and flexible colour learning in the pipevine swallowtail. *Animal Behaviour*, **53**, 1043–1052.

Figure 1: Mean floral display size and mean total flower production of *S. alba* (+/- s.e.) without (light grey, C-) and with competition (dark grey, C+) at a) the plot level and b) the plant level. Different letters are for significant differences.

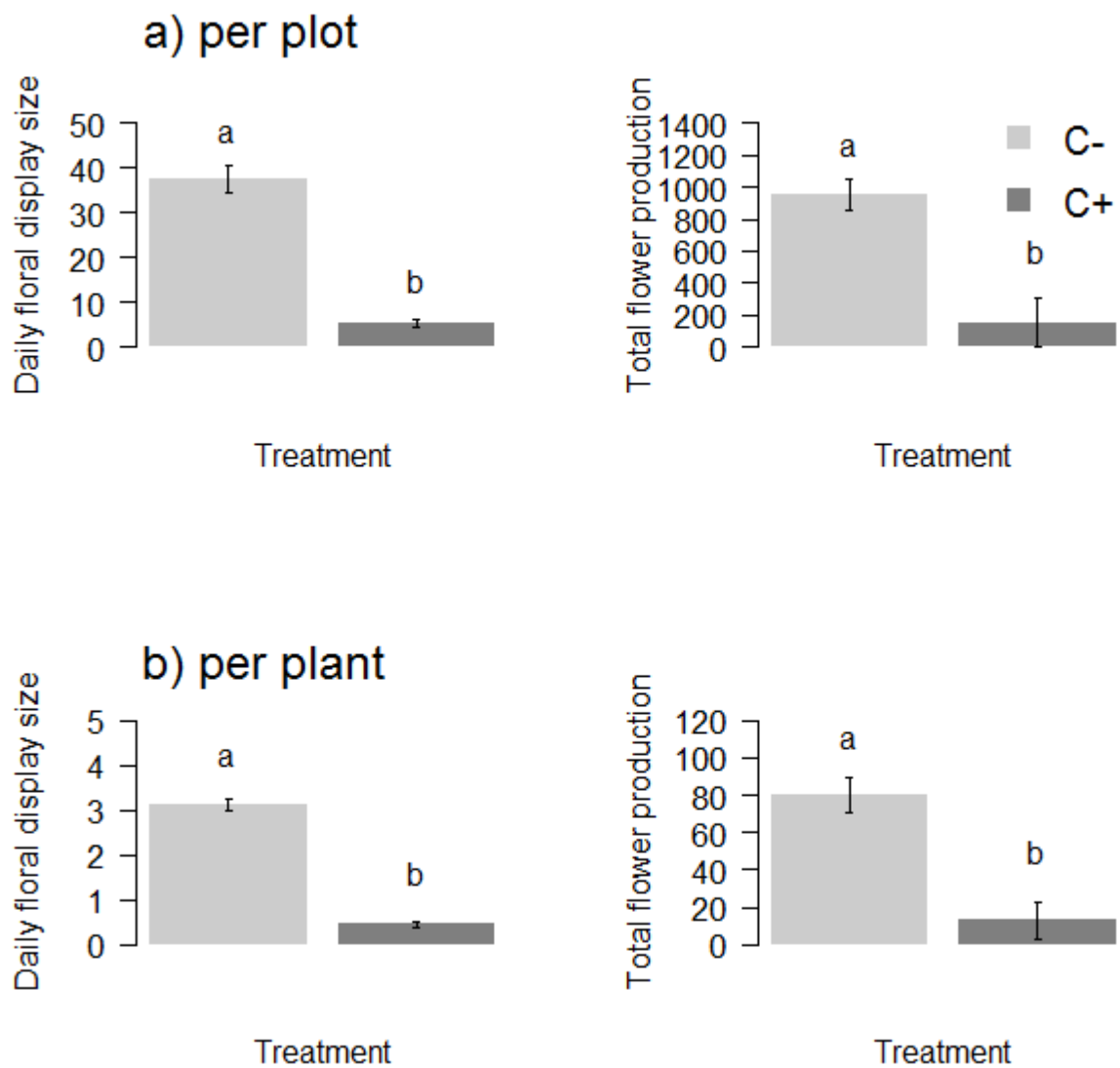


Figure 2: Probability of first visit on a plant of *S. alba* across time, without (C-) and with competition (C+).

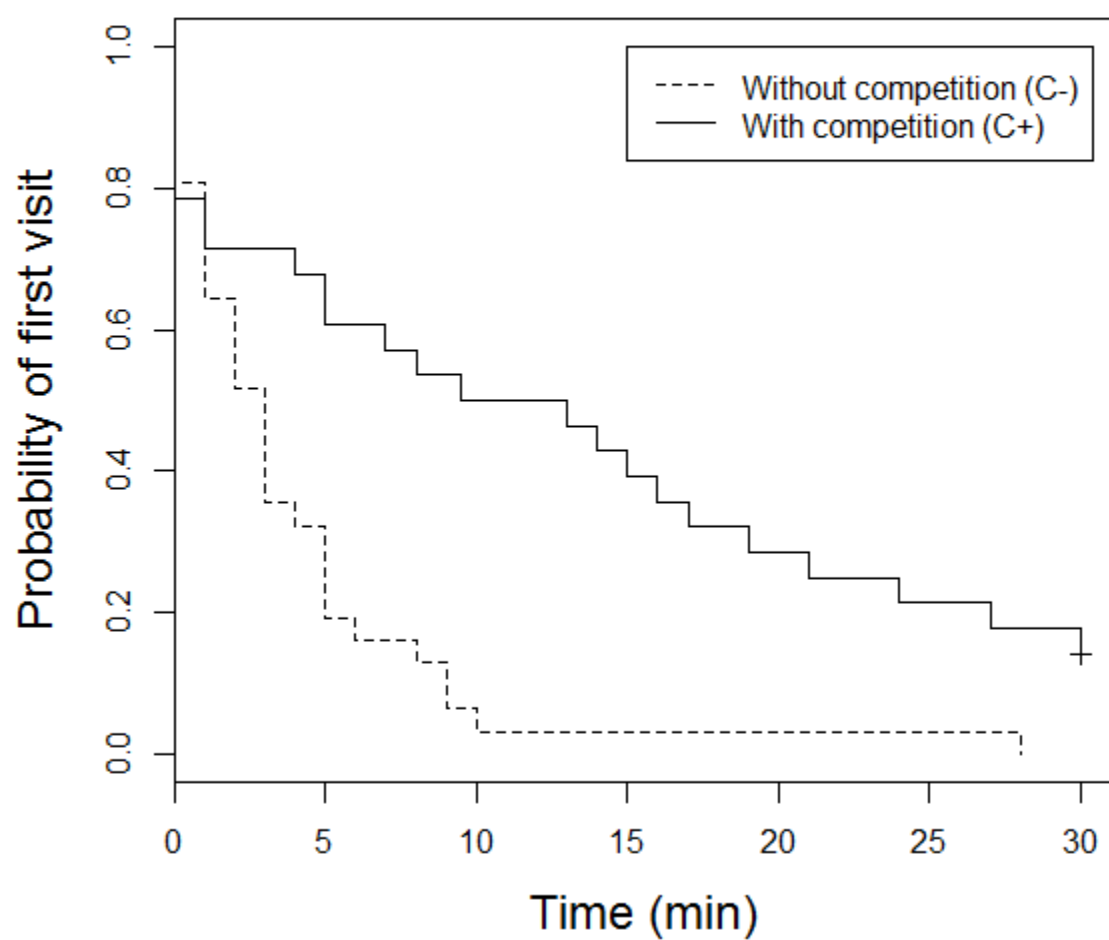


Figure 3: Probability of first flowering for a plant of *S. alba* across time, without (C-) and with competition (C+).

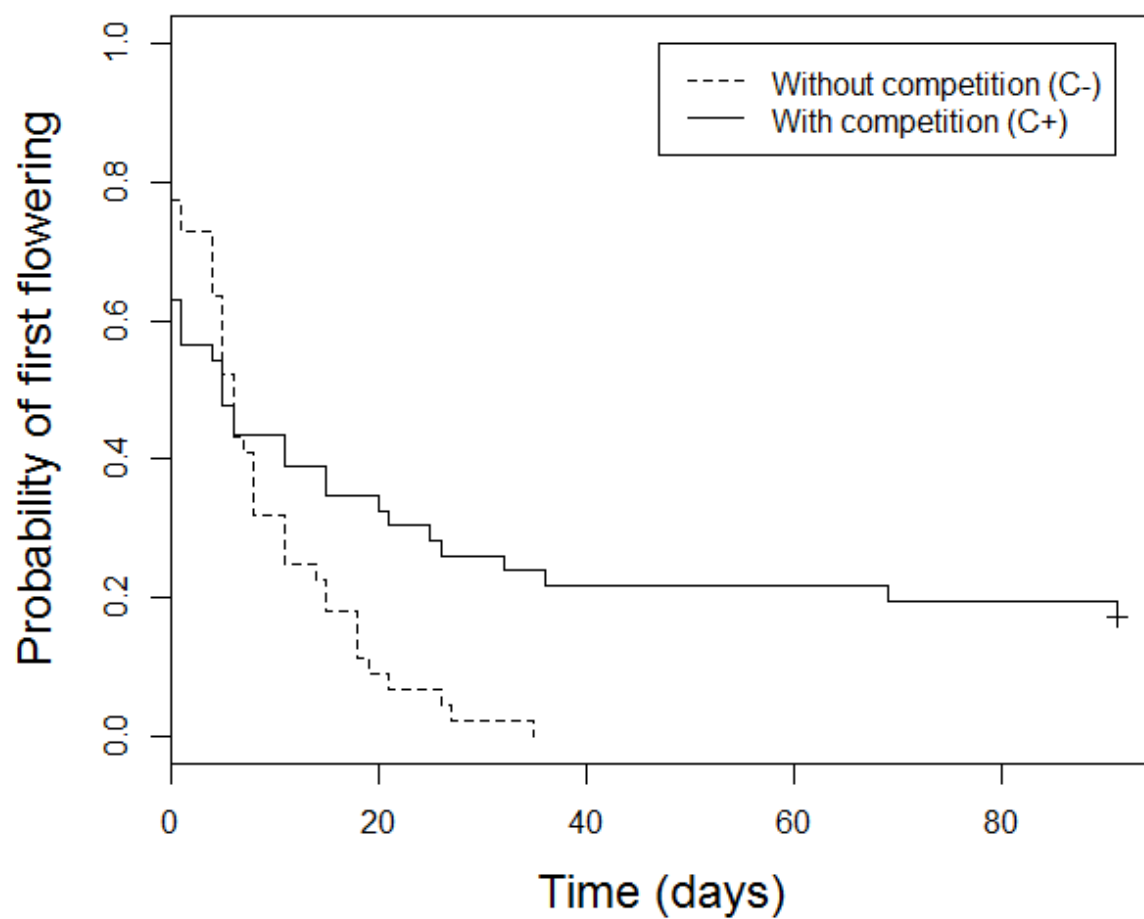


Figure 4: Mean total number of visits received by a plant of *S. alba*, without (C-) and with competition (C+). The star represents a significant difference between competition levels (i.e. C- or C+) while different letters are for significant differences observed per pollinator type among competition levels (i.e C- or C+).

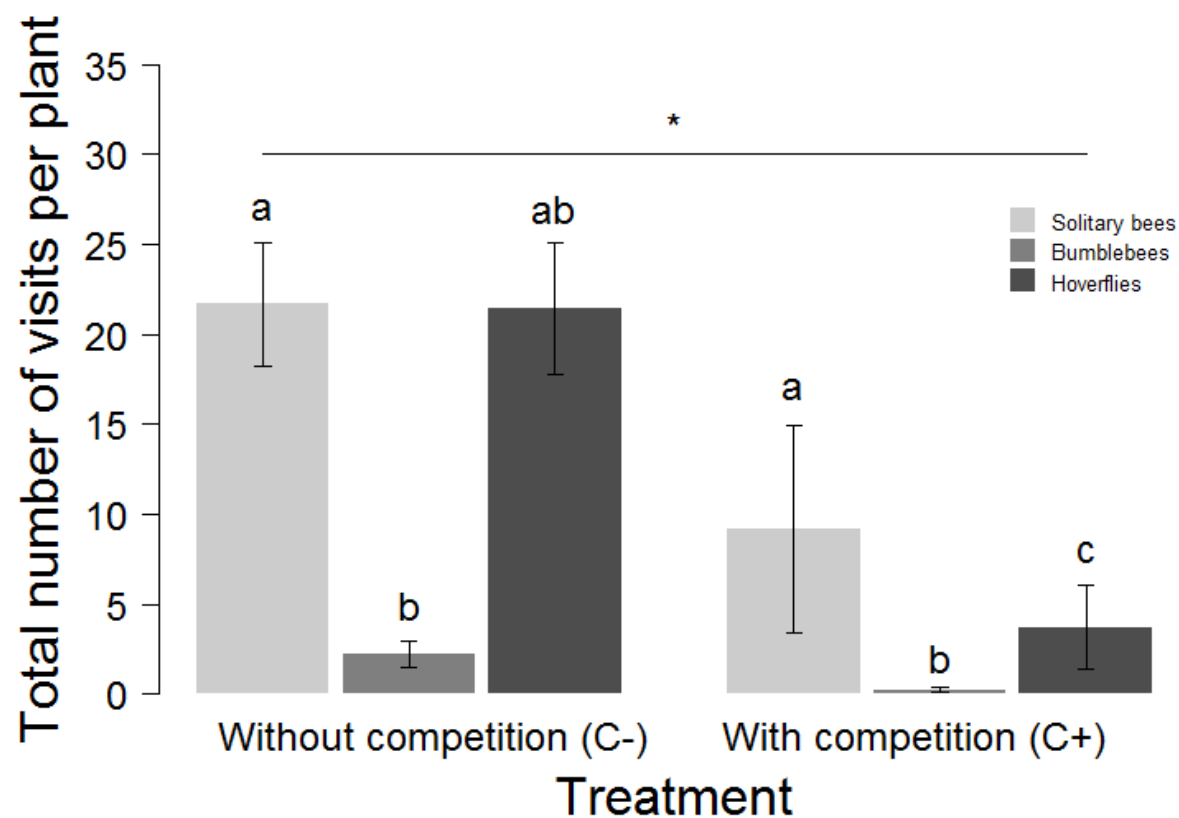
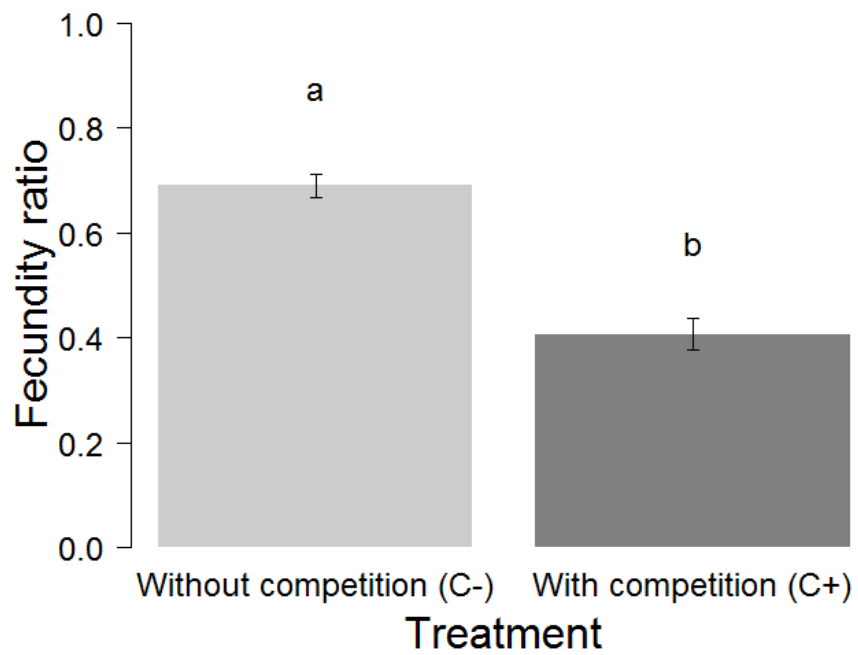


Figure 5: Mean fecundity ratio (\pm se) of *S. alba* without and with belowground competition with *H. lanatus*. Different letters are for significant differences.



Supplementary information

Figure S1: Illustration of the initial experimental design. This represents one block containing the four different treatments of competition with *Holcus lanatus*: a). *Sinapis alba* (E1) isolated from belowground competition, b). *Echium vulgare* (E2) isolated from belowground competition, c). both *Sinapis alba* and *Echium vulgare* isolated from belowground competition, and d). both *Sinapis alba* and *Echium vulgare* not isolated from belowground competition (see *Material and Methods*) (not to scale). We focused on treatment a. (the “without competition” treatment C-). and d. (the “with competition” treatment C+).

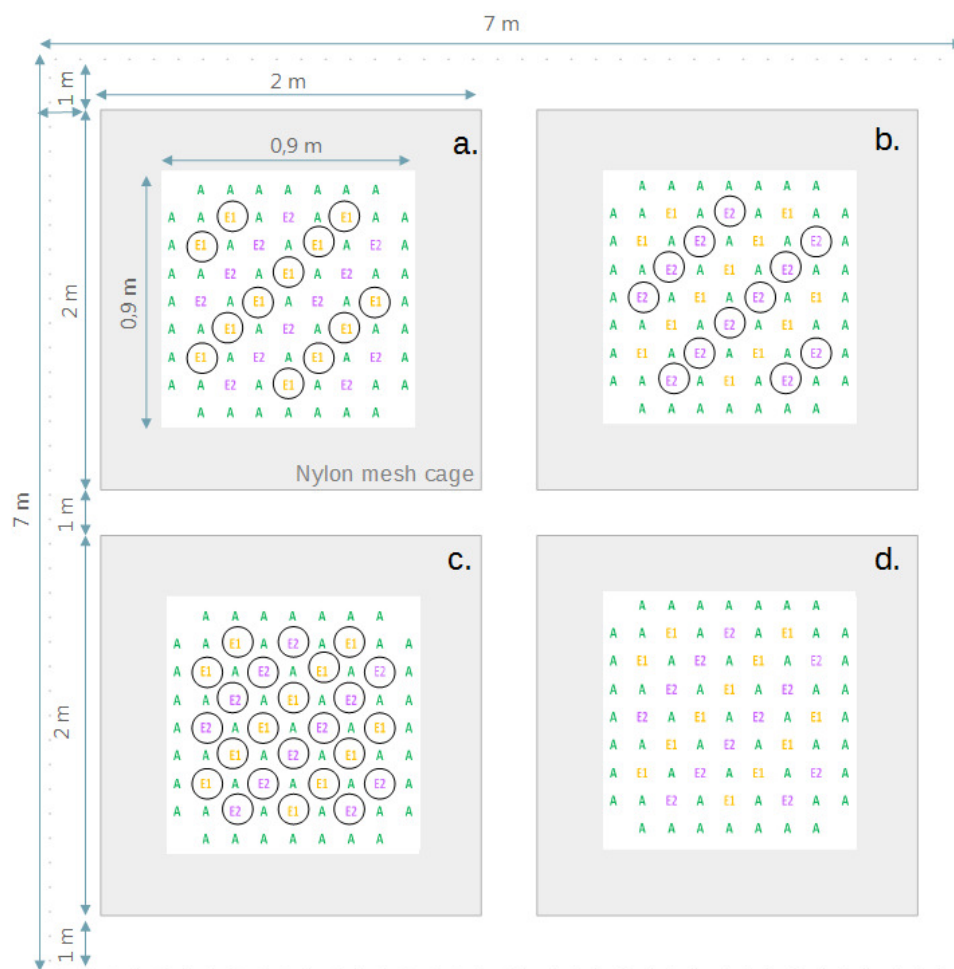
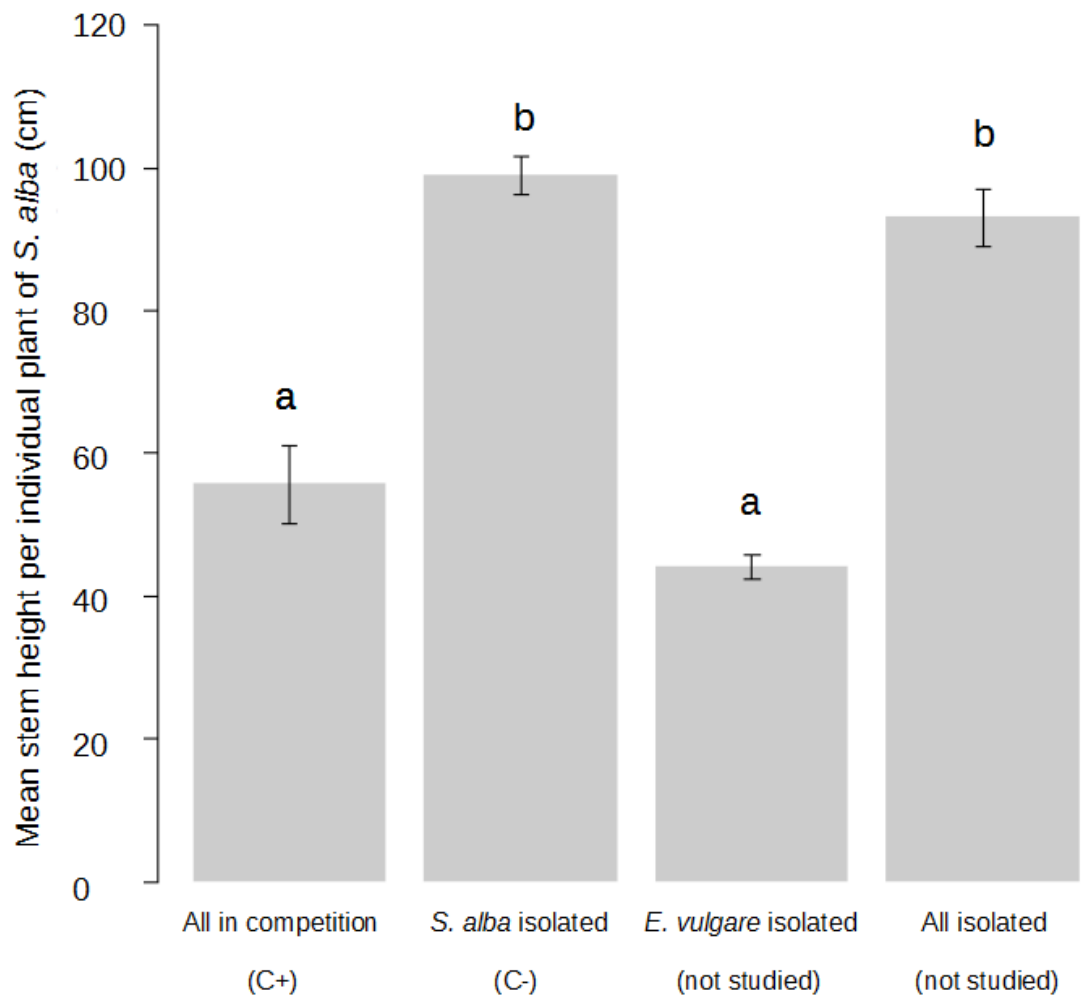


Figure S2: Mean stem height (\pm s.e.) of *S. alba* (cm) after 63 days of interaction with the competition mixture. Compared to the Figure S1, “all competition” refers to both *S. alba* and *E. vulgare* not isolated from belowground competition (treatment d.), “*S.alba* isolated” refers to *S. alba* isolated from belowground competition (treatment a.), “*E. vulgare* isolated” refers to *E. vulgare* isolated from belowground competition (treatment b.) and “all isolated” refers to both *S. alba* and *E. vulgare* isolated from belowground competition (treatment c.). In the study, we focused on “all in competition” (treatment d. in Figure S1, C+) and “*S. alba* isolated” (treatment a. in Figure S1, C-). Different letters are for significant differences.



VI. Conclusion générale et perspectives

*“It is interesting to contemplate
a tangled bank, clothed with many
plants of many kinds, with birds
singing on the bushes, with various
insects flitting about, and with worms
crawling through the damp earth [...]*

Charles Darwin, L'origine des espèces 1859

Conclusion générale et perspectives

Au cours de cette thèse nous nous sommes intéressés à l'effet des interactions de compétition entre plantes, notamment via la présence d'espèces anémophiles, sur l'attractivité aux pollinisateurs de plantes entomophiles. D'un système simple, à l'échelle d'une plante, jusqu'à l'étude des interactions entre une communauté de plantes et de pollinisateurs, nous avons démontré que la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles, notamment pour les ressources du sol, pouvait diminuer l'attractivité de plantes entomophiles annuelles. Cela semble notamment influencer leur production de fleurs et leur vitrine florale. L'effet de la compétition sur les récompenses associées, des traits plus fins d'attractivité comme la production de nectar, ne semble se révéler que lorsque la production de fleurs est prise en compte, qui plus est sur l'ensemble de la période de floraison. A l'échelle de la fleur, les récompenses en nectar semblent rester constantes quelque soit le traitement de compétition. Ces résultats nous ont ainsi permis de suggérer un possible trade-off dans la production de traits d'attractivité, notamment chez les espèces entomophiles annuelles. Concernant l'attractivité aux pollinisateurs en elle même, elle semble être également influencée par la présence d'espèces anémophiles compétitives dans le milieu, la diminution du nombre de visites en conditions de compétition étant associées à la diminution de la production de fleurs précédemment énoncée. Les conséquences sur la fécondité de la plante visitée concernent le nombre d'ovule non fécondés, qui diminue en conditions de compétition, suggérant ainsi une probable limitation dans la quantité reçue de pollen due à la réduction des visites. Globalement, l'intensité de ces effets dépend fortement de la compétitivité de l'espèce anémophile. Ainsi, certaines espèces peu agressives favorisent les traits d'attractivité chez des espèces entomophiles lorsque ces dernières sont de meilleurs compétiteurs. Puisque la compétition entre plantes peut moduler la disponibilité des ressources (Casper & Jackson, 1997; Gurevitch *et al.*, 2006), elle même source de variation des patrons d'allocation au sein des plantes (Aerts, 1991 ; Fitter, 1994 ; Müller *et al.*, 2000 ; Hermans *et al.*, 2006), l'effet négatif de la présence d'espèces anémophiles compétitives observé dans cette étude est probablement le résultat d'une diminution des ressources du sol, limitant ainsi l'allocation à la fois aux structures végétatives (biomasse) et reproductrices (fleurs, notamment). De manière globale, cette étude soulève donc l'importance de la compétition, notamment pour les ressources du sol, dans les interactions plantes-pollinisateurs, son effet pouvant se transmettre

de la plante aux pollinisateurs et réciproquement. Si l'on se replace dans une approche réseau, elle suggère que des interactions au sein même d'un niveau trophique (les plantes) peuvent influencer les interactions avec le niveau trophique supérieur (pollinisateurs). De plus, en suggérant que les compartiments hypogé et épigé sont étroitement liés, cette étude soulève une fois de plus l'importance de s'intéresser simultanément à diverses interactions (Wardle *et al.* 2004, van der Putten *et al.*, 2009). En ce sens ce travail de thèse témoigne donc de la diversité et de la complexité des interactions biotiques.

Bien sûr, ce travail de thèse présente certaines limites, ouvrant ainsi de nouvelles pistes de recherche. Tout d'abord, nous nous sommes basés sur un design substitutif afin d'étudier les interactions de compétition interspécifique. Ce protocole repose sur l'étude des interactions de compétition où la densité totale est maintenue constante: les mélanges sont le résultat du remplacement de certains individus par des individus d'autres espèces. L'ensemble des plantes a ainsi accès au même volume de sol (et donc à la même quantité de ressources) entre les monocultures et les mélanges. Néanmoins, ce design ne permet pas, dans le cas d'une meilleure performance de la plante focale en mélange, d'estimer si cela est le résultat d'une meilleure compétitivité de l'espèce focale ou si l'autre espèce en mélange est facilitatrice. C'est le cas notamment pour les espèces entomophiles étudiées ici dont les performances peuvent être meilleures en mélange avec *C. album* (cf Chapitre 1 notamment). La production d'une faible biomasse racinaire chez *C. album* suggère fortement que les espèces entomophiles étudiées sont de meilleures compétitrices, néanmoins, nous ne pouvons objectivement pas écarter l'hypothèse d'une relation de facilitation. Cette distinction pourrait être faite à l'aide d'un design additif, qui consiste à ajouter, à une densité constante de plants de l'espèce focale, une certaine densité d'une autre espèce. Ainsi, afin de mieux séparer les effets de la facilitation de celle de la compétition où une espèce est très supérieure à l'autre, il pourrait être judicieux de combiner ces deux types d'expérimentation. Par ailleurs, les interactions de compétition ont été estimées à partir des mesures de biomasses finales des différentes plantes en interaction. Il s'agit d'une méthode couramment utilisée (Casper & Jackson, 1997 ; Gurevitch *et al.*, 2006) sur laquelle se basent un grand nombre d'indices permettant de quantifier le sens, l'intensité, ou le résultat de la compétition induite par une espèce végétale sur une autre (Weigelt & Jolliffe, 2003). De plus, selon certains auteurs la biomasse ou la taille d'une plante peut être associée à la compétitivité d'une espèce (Gurevitch *et al.*, 2006, Rajaniemi 2007), la compétition pour les ressources du sol étant principalement

symétrique (proportionnelle à la biomasse racinaire par exemple Cahill & Casper, 2000 ; Schenk 2006). Néanmoins, la biomasse mesurée à la fin d'une expérience représente l'intégration d'un ensemble de traits (taux de croissance, architecture de la plante,...) qu'il pourrait être intéressant de prendre en compte individuellement dans une prochaine étude à la fois pour mieux comprendre les mécanismes impliqués et remettre les résultats obtenus en lien avec les théories actuelles sur la compétition entre plantes (Craine *et al.*, 2005b ; Tilman, 2012 ; Craine & Dybzinski, 2013). En outre, l'intensité de la compétition peut dépendre des conditions environnementales en particulier lorsque l'on s'intéresse à des environnements riches ou pauvres en nutriments (Goldberg *et al.*, 1999 ; Schenk 2006). Il est important de noter que la compétition entre plante, par ailleurs, est un processus dynamique. Certaines études s'intéressant, en plus de la biomasse, à la dynamique de croissance et d'acquisition des ressources des plantes en interaction au cours du temps et ont ainsi démontré que la compétitivité d'une espèce peut varier au cours d'une expérience, pouvant même s'inverser entre deux partenaires (Trinder *et al.*, 2012). Par ailleurs, au cours de cette étude il a été démontré que pour l'espèce la plus compétitive, les individus modifiaient leur allocation aux racines au fur et à mesure qu'elle prélevait les ressources du sol, les rendant ainsi de plus en plus compétitif. Ainsi, étudier les dynamiques d'acquisition des ressources et réaliser des mesures de biomasses régulières permettrait, dans la continuité de ce travail, de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la compétitivité des espèces anémophiles. Cela permettrait notamment de tester notre hypothèse, selon laquelle la compétitivité des espèces étudiées résulte de l'adéquation entre leur production de biomasse et l'épuisement des ressources dans le milieu. Enfin, la compétition épigée, bien que généralement considérée moins importante que la compétition hypogée dans les écosystèmes prairiaux (Kiaer *et al.* 2013), pourrait également avoir un rôle important dans ce genre d'étude.

Du point de vue des pollinisateurs, la dynamique temporelle des interactions plantes-pollinisateurs est également un aspect important et encore relativement peu étudié (Burkle & Alarcon, 2011). En effet ces dernières peuvent fortement varier à l'échelle d'une journée, d'une saison ou encore d'années (Alarcon *et al.*, 2008, Burkle & Alarcon, 2011) tant du point de vue de la composition des communautés de plantes et de pollinisateurs que des propriétés des réseaux concernés (nombre de liens par exemple). Il serait donc intéressant de poursuivre le travail engagé dans cette thèse par une expérience à plus long terme. De même, dans l'objectif d'approfondir cette étude, il conviendrait de s'intéresser à des communautés de plantes entomophiles diverses (comme c'était initialement prévu dans le troisième chapitre). Un

certain niveau de diversité dans la communauté de plantes entomophiles permettrait d'attirer des groupes morphologiques de pollinisateurs différents (Fontaine *et al.*, 2005), voire de régimes alimentaires différents (oligolectisme *versus* polylectisme). D'autre part nous pourrions également étudier d'autres traits d'attractivité (pollen, couleur des fleurs, odeurs) sensibles à la disponibilité des ressources (Lau & Stephenson, 1993, 1994 ; de Pascual-Teresa & Sanchez-Ballesta, 2008) et susceptibles de moduler le comportement de visites des pollinisateurs. L'ensemble de ces nouvelles mesures permettrait de déterminer si les préférences des pollinisateurs peuvent être modulées par le contexte de compétition pour les ressources dans lequel se trouve une espèce entomophile (dans la mesure où l'attractivité est modifiée). Nous pourrions également étudier s'il existe des réponses différentes entre pollinisateurs généralistes et spécialistes, ces derniers étant probablement plus vulnérables à des modifications d'attractivité de(s) (l') espèce(s) qu'ils visitent. Des modifications de quantité et de qualité du pollen pourraient notamment influencer les populations de pollinisateurs en tant que principale source de protéine pour de nombreuses espèces et leurs larves. Nous pourrions ainsi déterminer si les résultats obtenus sont traits-spécifiques et/ou pollinisateurs dépendants. Nous pourrions notamment déterminer si des modifications d'attractivité de plantes entomophiles ont différentes conséquences. De même, comme cela a été initié dans le chapitre 1, nous pourrions envisager de travailler sur des espèces végétales ayant des cycles de vie différents (pérennes vs annuelles) susceptibles d'avoir des réponses contrastées (Burkle & Irwin, 2009 ; Flacher *et al.*, 2015). En effet, l'allocation d'énergie aux structures reproductrices peut fortement varier selon le cycle de vie de l'espèce étudiée: chez une espèce annuelle de lupin, il a été démontré que près de 60% de l'énergie produite est allouée à la reproduction contre 18% seulement chez une espèce pérenne du même genre, et ce après deux années de croissance (Pitelka, 1977). Par ailleurs, Burkle & Irwin (2009) ont observé que, contrairement à une espèce annuelle, une espèce pérenne peut ne pas répondre à des variations de ressources du sol (ajout de fertilisant) la première année mais l'année suivant le traitement. Enfin en ce qui concerne la fécondité des plantes entomophiles, les expérimentations que nous avons réalisées ne permettent pas d'estimer finement son lien avec les variations des visites observées selon les conditions de compétition. L'hypothèse selon laquelle il existerait une limitation par le pollen, mérite ainsi d'être testée plus en détail afin de valider l'effet négatif du nombre de visite sur la production de graines. Par ailleurs, la production de graine peut également être limitée par les ressources (Campbell & Halama, 1993). Il serait donc intéressant de dégager les effets directs (via l'allocation de ressources à la reproduction) et indirects (via une modification des visites des pollinisateurs) de la compétition entre plantes

sur le succès reproducteur des plantes entomophiles étudiées.

Malgré ces limites, les résultats obtenus suggèrent qu'une espèce végétale compétitive pour les ressources, bien qu'elle n'interagisse pas directement avec la faune pollinisatrice, peut affecter l'attractivité et la fécondité d'une plante entomophile. À terme, les conséquences pour ces espèces, et plus généralement pour les réseaux plantes-pollinisateurs, pourraient être importantes. D'une part la composition des communautés de plantes pourrait être modifiée. En effet, si la présence d'une espèce anémophile compétitive pour les ressources du sol, peut diminuer le succès reproducteur d'une plante entomophile via une diminution du nombre de visites reçues, cela pourrait diminuer l'abondance de l'espèce entomophile et à terme (selon la taille de la population, la diversité génétique) menacer son maintien dans la communauté (Thomann *et al.*, 2013). En parallèle, cela pourrait influencer la communauté des pollinisateurs, notamment selon leur degré de spécialisme vis à vis de la plante entomophile menacée. Ainsi au sein des communautés naturelles, il est probable que la composition des communautés végétales et la compétition entre plantes pour les ressources du sol, influencent (et ait influencé) la structuration des communautés végétales de manière indirecte, via des interactions plantes-pollinisateurs. Cela pourrait être particulièrement le cas dans le contexte actuel de modification des communautés végétales (Lavergne *et al.*, 2006) susceptible de modifier les interactions de compétition entre plantes. En diminuant l'attractivité d'une plante entomophile, la compétition entre plantes pour les ressources du sol peut ainsi réduire la quantité de ressources florales offerte aux pollinisateurs, souvent cité comme une des causes de leur déclin actuel (Potts *et al.*, 2010). Les conséquences pour la plante entomophile en compétition pourraient être d'autant plus importantes si l'espèce compétitrice est elle-même entomophile et invasive. En effet en plus d'entrer en compétition pour les ressources du sol, les espèces entomophiles de la communauté entreraient en compétition pour les pollinisateurs (Chittka & Schürkens, 2001). Par ailleurs, la topologie des réseaux de pollinisation pourrait également être modifiée selon le contexte de compétition au sein d'une communauté de plante. Dans le contexte d'invasions biologiques (impliquant souvent des espèces entomophiles plus attractives) certaines études ont déjà démontré une modification de la structure des réseaux de pollinisation (Aizen *et al.*, 2008, Bartomeus *et al.*, 2008). Ainsi, dans un contexte de compétition entre plantes pour les ressources du sol réduisant l'attractivité de certaines espèces entomophiles, les réseaux de pollinisation pourraient également subir des changements. Néanmoins, il ne s'agit là que d'un ensemble d'hypothèses qui mériteraient d'être étudiées plus en détail.

Ce travail de thèse ouvre bien sûr des perspectives de recherches plus larges qui permettraient de mieux comprendre les interactions entre plantes et leurs influences sur les relations plantes-pollinisateurs. Dans l'introduction de cette thèse, nous avons tenté de mettre en avant la nécessité d'une approche intégrative. Ici, dans une approche « réseau », nous avons cherché à déterminer comment des interactions au sein d'un niveau trophique (plantes) peuvent influencer le niveau trophique supérieur (pollinisateur). Du point de vue des plantes, nous nous sommes principalement concentrés sur l'effet de la compétition pour les ressources. Cependant, d'autres interactions interspécifiques comme des interactions de facilitation, pourraient influencer l'attractivité de plantes entomophiles. Shumway (2000) a ainsi démontré que la présence d'une espèce facilitatrice (fixation d'azote, ombrage) peut favoriser la production de fleurs chez une espèce entomophile voisine. Par ailleurs, comme le démontre la figure tirée de Pocock *et al.* (2012, Box 2), les communautés de plantes sont au centre de nombreuses autres interactions susceptibles de s'influencer mutuellement. Nous pouvons notamment penser aux relations d'herbivorie. En effet qu'il s'agisse d'herbivores aériens (au niveau de feuilles) ou souterrain (au niveau des racines), leur présence peut affecter les interactions de pollinisation. D'une part, l'herbivorie peut influencer l'acquisition des ressources, modifiant ainsi l'allocation d'énergie aux traits d'attractivité. Des études ont ainsi démontré que la perte de surface foliaire suite à des événements d'herbivorie induit une diminution du nombre de fleurs produites et de la taille des fleurs (Mothershead & Marquis, 2000) et ce probablement par une diminution de l'activité photosynthétique. D'autre part, l'herbivorie peut se concentrer sur les fleurs elle-même (van der Wal *et al.*, 2000). Cette « florivorie » a pour effet de diminuer la taille de la vitrine florale, fortement impliquée, comme nous l'avons montré, dans les visites des pollinisateurs (voir Chapitre 3), ainsi que la production de récompenses, qui diminuent chez les fleurs endommagées (Krupnik *et al.*, 1999). Par ailleurs, alors que les interactions de pollinisation favorisent la production de traits attractifs, les relations plantes-herbivores conduisent à la production de traits défensifs. Sous l'effet de l'herbivorie, des composés secondaires (comme des alcaloïdes) sont synthétisés jusque dans le nectar repoussant ainsi les herbivores mais pouvant également repousser les pollinisateurs (Adler & Irwin, 2005). Les communautés de micro-organismes du sol pourraient également moduler les résultats obtenus et ce via 1) un effet sur les interactions de compétition entre plantes ou 2) sur la production de traits d'attractivité aux pollinisateurs. En effet il a été démontré que la colonisation de racines par des champignons mycorhiziens, peut

chez certaines espèces de plantes, modifier leur compétitivité (Allen & Allen, 1984 ; Moora & Zobel, 1996 ; Callaway *et al.*, 2001) mais aussi être à l'origine de modifications de traits d'attractivité aux pollinisateurs, avec selon les cas des effets positifs ou négatifs : augmentation de la production de fleur et de nectar (Gange & Smith, 2005), diminution de la production de nectaires extra-floraux (Laird & Addicott, 2007) ou encore modification de la vitrine florale (Cahill *et al.*, 2008). Ces modifications peuvent à leur tour influencer le nombre de visites ainsi que la composition de la communauté de pollinisateurs visitant une plante focale (Gange & Smith, 2005 ; Cahill *et al.*, 2008). Ainsi, pour de futures recherches, une approche multitrophique permettrait d'avoir une meilleure compréhension du fonctionnement des relations plantes-pollinisateurs.

Par ailleurs, comme précédemment énoncé, les travaux de cette thèse se sont principalement concentrés sur l'effet de la compétition entre plantes pour les ressources du sol sur l'attractivité aux pollinisateurs. En cela, nous nous sommes intéressés à la possibilité d'un contrôle « bottom-up ». Il n'est pourtant pas à négliger qu'un contrôle « top-down » existe. En effet, chez certaines espèces de plantes, l'exploitation du nectar par les pollinisateurs stimule sa production (Ordano & Ornelas, 2004 ; Luo *et al.*, 2014). Néanmoins la production de nectar est coûteuse en terme d'énergie et peut modifier l'allocation de carbone au sein d'une plante (Southwick, 1984 ; Pyke, 1991). Or, les exsudats racinaires sont aussi composés de molécules carbonées et jouent un rôle majeur sur la composition des communautés de micro-organismes du sol (Broeckling *et al.*, 2008). Les pollinisateurs pourraient donc exercer un contrôle « top-down » sur les communautés de micro-organismes du sol en déviant une partie du carbone de la plante des racines vers les fleurs ou en modifiant la quantité et la qualité des exsudats racinaires. Néanmoins ceci ne reste qu'une hypothèse que de futurs travaux de recherche pourraient explorer.

Outre ces perspectives de recherche, ce travail de thèse a des implications potentielles pour des problématiques plus appliquées. La fragmentation des habitats (dont l'urbanisation et le remembrement agricole) est souvent citée comme une des causes majeures des modifications observées au sein des communautés naturelles, et notamment du déclin des pollinisateurs (Potts *et al.*, 2010 ; Geslin *et al.*, 2016). Ainsi de nouvelles initiatives ont émergé ces dernières années afin de restaurer ressources et habitats. Dans notre cas, nous pouvons notamment penser à l'élaboration de mélanges de graines pour la mise en place de prairies ou jachères fleuries, voire de « bandes enherbées », sensées servir de réservoir de nourriture mais aussi

d'abri aux pollinisateurs. Dans un premier temps, ces mélanges étaient composés d'espèces végétales entomophiles produisant de nombreuses récompenses mais bien souvent non natives aux régions dans lesquelles elles étaient implantées. Comme toute introduction, celle ci comporte des risques d'invasions biologiques. Bien que ces mélanges soient encore largement commercialisés, de nouveaux mélanges ont été élaborés, intégrant notamment des espèces entomophiles natives de prairies, et parfois même des espèces anémophiles afin de proposer des compositions floristiques proches des prairies naturelles. Que ce soit dans un contexte urbain ou agricole, l'utilisation de ces mélanges s'est fortement développée depuis quelques années. De nombreuses études se sont ainsi penchées sur l'intérêt et l'efficacité de cette pratique pour le maintien des communautés de pollinisateurs. Du point de vue des pollinisateurs, la mise en place de jachère fleuries ou de bandes enherbées peut avoir un effet positif sur l'abondance des pollinisateurs ou la fréquence de leur visites en milieu urbain (Blackmore & Goulson, 2014) et agricole (Blaauw & Isaacs, 2014 ; Feltham *et al.*, 2015). En revanche l'effet de ce genre de pratique sur les communautés végétales semble peu étudié. Les travaux de cette thèse semblent ainsi soulever plusieurs questions : quelle est l'efficacité réelle d'un mélange comportant des espèces anémophiles pour attirer des pollinisateurs si la compétition entre plante peut moduler l'attractivité des plantes entomophiles associées? Quelles seraient les conséquences de ces mélanges d'espèces, même natives, sur l'attractivité (voire la fécondité) des espèces présentes ou voisines ? Ces questions mériteraient bien sûr une plus longue investigation bien au delà de ce travail de thèse

La question de l'importance de la composition des assemblages de plantes sur les relations plantes-pollinisateurs reste fondamentale, qui plus est dans le contexte actuel de modifications des communautés naturelles. Ce travail de thèse suggère que, bien qu'elles n'interagissent pas directement avec les pollinisateurs, la présence d'espèces non entomophiles peut moduler les interactions de pollinisation. De ce fait il semble plus que nécessaire d'incorporer ces dernières dans les études sur les réseaux plantes-pollinisateurs, encore focalisées sur les espèces entomophiles. Cette conclusion remet ainsi en perspectives les études sur les réseaux plantes-pollinisateurs, en les ouvrant à l'ensemble de la communauté végétale

Références bibliographiques

- Adler, L. S., & Irwin, R. E. (2005). Ecological costs and benefits of defenses in nectar. *Ecology*, 86(11), 2968-2978.
- Aerts, R. (1999) Interspecific competition in natural plant communities : mechanisms , trade-offs and plant – soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 29–37.
- Aerts, R., & Chapin III, F. S. (2000). The mineral nutrition of wild plants revisited. *Adv Ecol Res*, 30, 1-67.
- Agrawal, A.A., Ackerly, D.D., Adler, F., Arnold, A.E., Caceres, C., Doak, D.F., Post, E., Hudson, P.J., Maron, J., Mooney, K.A., Power, M., Schemske, D., Stachowicz, J., Strauss, S., Turner, M.G. & Werner, E. (2007) Filling key gaps in population and community ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **5**, 145–152.
- Aguilar, M.R., Lauenroth, W.K. & Peters, D.P. (2001) Intensity of intra- and interspecific competition in coexisting shortgrass species. *Journal of Ecology*, **89**, 40–47.
- Aizen, M. A., Morales, C. L., & Morales, J. M. (2008). Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLoS Biol*, 6(2), e31.
- Alarcon, R., Waser, N.M. & Ollerton, J. (2008) Year-to-year variation in the topology of a plant pollinator interaction network. *Oikos*, 1–12.
- Albrecht, M., Schmid, B., Hautier, Y. & Müller, C.B. (2012) Diverse pollinator communities enhance plant reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 4845–52.
- Allen, E. B., & Allen, M. F. (1984). Competition between plants of different successional stages: mycorrhizae as regulators. *Canadian Journal of Botany*, 62(12), 2625-2629.
- Alm, J., Ohnmeiss, T. E., Lanza, J., & Vriesenga, L. (1990). Preference of cabbage white butterflies and honey bees for nectar that contains amino acids. *Oecologia*, 84(1), 53-57.
- Ashman, T.-L., Knight, T.M., Steets, J.A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Morgan, M.T. & Wilson, W.G. (2004) Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, **85**, 2408–2421.
- Barber, N.A. & Soper-Gorden, N.L. (2015) How do belowground organisms influence plant – pollinator interactions ? *Journal of Plant Ecology*, **8**, 1–11.
- Bardgett, R.D., Wardle, D.A. & Yeates, G.W. (1998) Linking above-ground and below-ground interactions: how plant response to foliar herbivory influence soil organisms. *Soil biology and biochemistry*, **30**, 1867–1878.

- Bartomeus, I., Vilà, M., & Santamaría, L. (2008). Contrasting effects of invasive plants in plant–pollinator networks. *Oecologia*, **155**(4), 761–770.
- Baude, M. (2009) Information et compétition dans les systèmes plantes-pollinisateurs : rôle de la structure spatiale et de la diversité des communautés végétales
- Baude, M., Leloup, J., Suchail, S., Allard, B., Benest, D., Mériguet, J., Nunan, N., Dajoz, I. & Raynaud, X. (2011) Litter inputs and plant interactions affect nectar sugar content. *Journal of Ecology*, **99**, 828–837.
- Begon, M., Townsend, C.R. & Harper, J.L. (2006) *Ecology - From Individuals to Ecosystems*, fourth edition (ed Blackwell Publishing). Carlton.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, a P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., Settele, J. & Kunin, W.E. (2006) Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, **313**, 351–354.
- Blackmore, L. M., & Goulson, D. (2014). Evaluating the effectiveness of wildflower seed mixes for boosting floral diversity and bumblebee and hoverfly abundance in urban areas. *Insect Conservation and Diversity*, **7**(5), 480–484.
- Blaauw, B. R., & Isaacs, R. (2014). Flower plantings increase wild bee abundance and the pollination services provided to a pollination-dependent crop. *Journal of Applied Ecology*, **51**(4), 890–898.
- Booth, B. D., Murphy, S. D., & Swanton, C. J. (2010). Structure and dynamic of population in *Invasive plant ecology in natural and agricultural systems* 2nd edition, CABI
- Broeckling, C.D., Broz, A.K., Bergelson, J., Manter, D.K. & Vivanco, J.M. (2008) Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**, 738–744.
- Bronstein, J.L., Wilson, W.G. & Morris, W.F. (2003) Ecological dynamics of mutualist / antagonist communities. *The American naturalist*, **162**, S24–S39.
- Brown, B. & Mitchell, R. (2001) Competition for pollination: effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia*, **129**, 43–49.
- Brown, B. J., Mitchell, R. J., & Graham, S. A. (2002). Competition for pollination between an invasive species (purple loosestrife) and a native congener. *Ecology*, **83**(8), 2328–2336.
- Burke, L. A., & Irwin, R. E. (2009). The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology*, **203**(1), 83–98.
- Burke, L.A. & Irwin, R.E. (2010) Beyond biomass: measuring the effects of community-level nitrogen enrichment on floral traits, pollinator visitation and plant reproduction. *Journal of Ecology*, **98**, 705–717.

- Burkle, L. A., & Alarcón, R. (2011). The future of plant–pollinator diversity: understanding interaction networks across time, space, and global change. *American Journal of Botany*, **98**(3),
- Cahill Jr, J. F., & Casper, B. B. (2000). Investigating the relationship between neighbor root biomass and belowground competition: field evidence for symmetric competition belowground. *Oikos*, **90**(2), 311–320.
- Cahill Jr, J. F., Elle, E., Smith, G. R., & Shore, B. H. (2008). Disruption of a belowground mutualism alters interactions between plants and their floral visitors. *Ecology*, **89**(7), 1791–1801.
- Callaway, R.M. (1995) Positive interactions among plants. *Botanical Review*, **61**, 306–349.
- Callaway, R., Newingham, B., Zabinski, C. A., & Mahall, B. E. (2001). Compensatory growth and competitive ability of an invasive weed are enhanced by soil fungi and native neighbours. *Ecology Letters*, **4**(5), 429–433.
- Callaway, R.M. (2007) *Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities* (ed Springer). Dordrecht.
- Canto, A., Pérez, R., Medrano, M., Castellanos, M.C. & Herrera, C.M. (2007) Intra-plant variation in nectar sugar composition in two *Aquilegia* species (Ranunculaceae): Contrasting patterns under field and glasshouse conditions. *Annals of Botany*, **99**, 653–660.
- Cardoza, Y.J., Harris, G.K. & Grozinger, C.M. (2012) Effects of soil quality enhancement on pollinator-plant interactions. *Psyche: a journal of entomology*, **2012**, 1–8.
- Casper, B.B. & Jackson, R.B. (1997) Plant competition underground. *Ecology*, **28**, 545–570.
- Chase, J.M., Abrams, P.A., Grover, J.P., Diehl, S., Chesson, P., Holt, R.D., Richards, S.A., Nisebt, R.M. & Case, T.J. (2002) The interaction between predation and competition : a review and synthesis. *Ecology letters*, **5**, 302–315.
- Chittka, L., & Schürkens, S. (2001). Successful invasion of a floral market. *Nature*, **411**(6838), 653–653.
- Chittka, L., Spaethe, J., Schmidt, A. & Hickelsberger, A. (2001) Adaptation, constraint, and chance in the evolution of flower color and pollinator color vision in *Cognitive ecology of pollination*. Cambridge : Cambridge University Press
- Cnaani, J., Thomson, J.D. & Papajà, D.R. (2006) Flower choice and learning in foraging bumblebees : effects of variation in nectar volume and concentration. *Ethology*, **112**, 278–285.
- Conner, J.K. & Rush, S. (1996) The effect of flower size and number on pollinator visitation to wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Oecologia*, **105**, 509–516.

- Craine, J.M., Fargione, J. & Sugita, S. (2005a) Supply pre-emption, not concentration reduction, is the mechanism of competition for nutrients. *The New phytologist*, **166**, 933–40.
- Craine, J. M. (2005b). Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *Journal of ecology*, 93(6), 1041-1052.
- Craine, J. M., & Dybzinski, R. (2013). Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology*, 27(4), 833-840.
- Crane, P. R., Friis, E. M., & Pedersen, K. R. (2000). The origin and early diversification of angiosperms. *Shaking the Tree: Readings from Nature in the History of Life*, 233-250.
- Dafni, A. (1992) *Pollination Ecology: A Practical Approach*. IRL press at Oxford university press, New York.
- van Dam, N.M. (2009) How plants cope with biotic interactions. *Plant Biology*, **11**, 1–5.
- Danforth, B. (2007) Bees. *Current biology*, **17**, 156–161.
- Darwin, C. 1862 on the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effects of intercrossing
- Devlin, A.B., Horton, J.B., Stephenson, A.G., Devlin, B., Horton, J.B. & Stephenson, A.G. (1987) Patterns of nectar production of *Lobelia cardinalis*. *The American Midland Naturalist*, **117**, 289–295.
- Dobson, H. E. (2006). Relationship between floral fragrance composition and type of pollinator. *Biology of floral scent*, 147-198.
- Dupont, Y.L., Padrón, B., Olesen, J.M. & Petanidou, T. (2009) Spatio-temporal variation in the structure of pollination networks. *Oikos*, **118**, 1261–1269.
- Elle, E. & Carney, R. (2003) Reproductive assurance varies with flower Size in *Collinsa parviflora* (Scrophulariaceae). *American journal of botany*, **90**, 888–896.
- Engel, E.C. & Irwin, R.E. (2003) Linking pollinator visitation rate and pollen receipt. *American journal of botany*, **90**, 1612–1618.
- Feltham, H., Park, K., Minderman, J., & Goulson, D. (2015). Experimental evidence of the benefit of wild flower strips to crop pollination. *Ecology and Evolution*.
- Fenner, M. W. (2012). *Seed ecology*. Springer Science & Business Media.
- Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., & Thomson, J. D. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 375-403.
- Fitter, A. H. (1994). Architecture and biomass allocation as components of the plastic response of root systems to soil heterogeneity. *Exploitation of environmental heterogeneity by plants: ecophysiological processes above-and belowground*, 305-323.

- Flacher, F., Raynaud, X., Hansart, A., Motard, E., & Dajoz, I. (2015). Competition with wind-pollinated plant species alters floral traits of insect-pollinated plant species. *Scientific reports*, *5*.
- Fontaine, C., Dajoz, I., Meriguet, J., & Loreau, M. (2005). Functional diversity of plant–pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *PLoS Biol*, *4*(1), e1.
- Fontaine, C., Guimarães, P.R., Kéfi, S., Loeuille, N., Memmott, J., van der Putten, W.H., van Veen, F.J.F. & Thébault, E. (2011) The ecological and evolutionary implications of merging different types of networks. *Ecology Letters*, **14**, 1170–1181.
- Gange, A. C., & Smith, A. K. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi influence visitation rates of pollinating insects. *Ecological Entomology*, *30*(5), 600–606.
- Gardener, M.C. & Gillman, M.P. (2001a) Analyzing variability in nectar amino acids: composition is less variable than concentration. *Journal of chemical ecology*, **27**, 2545–58.
- Gardener, M.C. & Gillman, M.P. (2001b) The effects of soil fertilizer on amino acids in the floral nectar of corncockle, *Agrostemma githago* (Caryophyllaceae). *Oikos*, **92**, 101–106.
- is less variable than concentration. *Journal of chemical ecology*, **27**, 2545–58.
- Gardener, M.C. & Gillman, M.P. (2002) The Taste of Nectar : A Neglected Area of Pollination Ecology. *Oikos*, **98**, 552–557.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M.A., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Kremen, C., Carvalheiro, L.G., Harder, L.D., Afik, O., Bartomeus, I., Benjamin, F., Bireux, V., Cariveau, D., Chacoff, N.P., Dudenhöffer, J.H., Freitas, B.M., Ghazoul, J., Greenleaf, S., Hipolito, J., Holzschuc, A., Howlett, B., Isaacs, R., Javorek, S.K., Kennedy, C.M., Krewenka, K., Krishnan, S., Mandelik, Y., Mayfield, M.M., Motzke, I., Munyuli, T., Nault, B.A., Otieno, M., Petersen, J., Pisanty, G., Potts, S.G., Rader, R., Ricketts, T.H., Rundöf, Ma., Seymour, C.L., Schüepp, C., Szentgyörgyi, H., Taki, H., Tscharnke, T., Vergara, C.H., Viana, B.F., Wanger, T.C., Westphal, C., Williams, N. & Klein, A.-M. (2013) Wind pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*, **339**, 1608–1611.
- Gause, G. (1934). The struggle for existence. 1st edn. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Georgelin, E. & Loeuille, N. (2014) Dynamics of coupled mutualistic and antagonistic interactions, and their implications for ecosystem management. *Journal of Theoretical Biology*, *346*, 67–74.
- Geslin B., Le Féon V., Kulhmann M., Vaissière B., & I. Dajoz. (2016). The bee fauna of large parks in downtown Paris, France. *Annales de la Société Entomologique de France*. In press.
- Goldberg, D. E. (1990). Components of resource competition in plant communities. in

Perspectives on plant competition, 27-49.

Goldberg, D. E., & Barton, A. M. (1992). Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities: a review of field experiments with plants. *American naturalist*, 771-801.

Goldberg, D. E., Rajaniemi, T., Gurevitch, J., & Stewart-Oaten, A.. (1999). Empirical Approaches to Quantifying Interaction Intensity: Competition and Facilitation along Productivity Gradients. *Ecology*, 80(4), 1118–1131

Grace, J. B. (1990). On the relationship between plant traits and competitive ability. in *Perspectives on plant competition*, 51-65.

Greenleaf, S.S. & Kremen, C. (2006) Wild bees enhance honey bees ' pollination of hybrid sunflower. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 13890–13895.

Grime, J. P. (1979). Primary strategies in plants. In *Transactions of the Botanical Society of Edinburgh* (Vol. 43, No. 2, pp. 151-160). Taylor & Francis Group.

Grime, J. P. (1988). The CSR model of primary plant strategies—origins, implications and tests. In *Plant evolutionary biology* (pp. 371-393). Springer Netherlands.

Grindeland, J.M., Sletvold, N. & Ims, R.A. (2005) Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology*, **19**, 383–390.

Gurevitch, J., Scheiner, S.M. & Fox, G.A. (2006) *The Ecology of Plants*, Second edi (ed SA Inc.Publishers). Sunderland Massachusetts.

Hanley, T. C., La Pierre, K. J. 2015 Trophic ecology : bottom-up and top-down interactions in aquatic and terrestrial systems cambridge : Cambridge University Press 410p

Hegland, S.J. & Totland, Ø. (2005) Relationships between species' floral traits and pollinator visitation in a temperate grassland. *Oecologia*, **145**, 586–94.

Heil, M. (2011) Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in plant science*, **16**, 191–200.

Hermans, C., Hammond, J. P., White, P. J., & Verbruggen, N. (2006). How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation?. *Trends in plant science*, 11(12), 610-617.

Herrera, C. M., & Soriguer, R. C. (1983). Inter-and intra-floral heterogeneity of nectar production in *Helleborus foetidus* L.(Ranunculaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 86(3), 253-260.

Herrera, C.M., Pérez, R. & Alonso, C. (2006) Extreme intraplant variation in nectar sugar composition in an insect-pollinated perennial herb. *American journal of botany*, **93**, 575–581.

Hinsinger, P., Bengough, A.G., Vetterlein, D. & Young, I.M. (2009) Rhizosphere: Biophysics,

- biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil*, **321**, 117–152.
- Hodge, A. (2004). The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New phytologist*, *162*(1), 9–24.
- Holt, R.H. (1977) Predation, apparent competition and structure of prey communities. *Theoretical population biology*, **12**, 197–229.
- Hoover, S.E.R., Ladley, J.J., Shchepetkina, A.A., Tisch, M., Gieseg, S.P. & Tylianakis, J.M. (2012) Warming, CO₂, and nitrogen deposition interactively affect a plant-pollinator mutualism. *Ecology Letters*, **15**, 227–234.
- Ings, T.C., Montoya, J.M., Bascompte, J., Blüthgen, N., Brown, L., Dormann, C.F., Edwards, F., Figueroa, D., Jacob, U., Jones, J.I., Lauridsen, R.B., Ledger, M.E., Lewis, H.M., Olesen, J.M., van Veen, F.J.F., Warren, P.H. & Woodward, G. (2009) Review: Ecological networks - beyond food webs. *Journal of Animal Ecology*, **78**, 253–269.
- Ishii, H.S., Hirabayashi, Y. & Kudo, G. (2008) Combined effects of inflorescence architecture, display size, plant density and empty flowers on bumble bee behaviour: experimental study with artificial inflorescences. *Oecologia*, **156**, 341–350.
- Iwata, T., Nagasaki, O., Ishii, H.S. & Ushimaru, A. (2012) Inflorescence architecture affects pollinator behaviour and mating success in *Spiranthes sinensis* (Orchidaceae). *New Phytologist*, **193**, 196–203.
- Jauker, F. & Wolters, V. (2008) Hover flies are efficient pollinators of oilseed rape. *Oecologia*, **156**, 819–823.
- Johnson, N.C., Graham, J.H. & Smith, F.A. (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism – parasitism continuum. *New Phytologist*, **135**, 575–585.
- Johnson, N.C. & Graham, J.H. (2013) The continuum concept remains a useful framework for studying mycorrhizal functioning. *Plant and Soil*, **363**, 411–419.
- Kandori, I., Hirao, T., Matsunaga, S. & Kurosaki, T. (2009) An invasive dandelion unilaterally reduces the reproduction of a native congener through competition for pollination. *Oecologia*, **159**, 559–69.
- Kearns, C.A. & Inouye, D.W. (1993) *Techniques for Pollination Biologists* (ed University Press of Colorado). Niwot Colorado.
- Keasar, T., Sadeh, A., & Shmida, A. (2008). Variability in nectar production and standing crop, and their relation to pollinator visits in a Mediterranean shrub. *Arthropod-Plant Interactions*, *2*(2), 117–123.
- Kéfi, S., Berlow, E.L., Wieters, E.A., Navarrete, S.A., Petchey, O.L., Wood, S.A., Boit, A., Joppa, L.N., Lafferty, K.D., Williams, R.J., Martinez, N.D., Menge, B.A., Blanchette, C.A., Iles, A.C. & Brose, U. (2012) More than a meal... integrating non-feeding interactions into food webs. *Ecology Letters*, **15**, 291–300.

- Kiaer, L.P., Weisbach, A.N. & Weiner, J. (2013) Root and shoot competition: a meta-analysis (ed D Gibson). *Journal of Ecology*, **101**, 1298–1312.
- Klein, A.-M., Steffan-Dewenter, I. & Tschardtke, T. (2003) Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **270**, 955–61.
- Knight, T.M., McCoy, M.W., Chase, J.M., McCoy, K.A. & Holt, R.D. (2005) Trophic cascades across ecosystems. *Nature*, **437**, 880–883.
- de Kroon, H., Mommer, L. & Nishiawaki, A. (2003) Root Competition : Towards a mechanistic understanding. *Ecological studies*, **168**.
- Krupnick, G. A., Weis, A. E., & Campbell, D. R. (1999). The consequences of floral herbivory for pollinator service to *Isomeris arborea*. *Ecology*, *80*(1), 125-134.
- Kudo, G. & Harder, L.D. (2005) Floral and inflorescence effects on variation in pollen removal and seed production among six legume species. *Functional Ecology*, **19**, 245–254.
- Lafferty, K.D., Allesima, S., Arim, M., Briggs, C.J., De Leo, G., Dobson, A.P., Dunne, J.A., Johnson, P.T.J., Kuris, A.M., Marcogliese, D.J., Martinez, N.D., Memmott, J., Marquet, Pablo, A., McLaughlin, J.P., Mordecai, E.A., Pascual, M., Poulin, R. & Thielges, D.W. (2008) Parasites in food webs : the ultimate missing links. *Ecology letters*, **11**, 533–546.
- Laird, R. A., & Addicott, J. F. (2007). Arbuscular mycorrhizal fungi reduce the construction of extrafloral nectaries in *Vicia faba*. *Oecologia*, *152*(3), 541-551.
- Lavergne, S., Molina, J. & Debussche, M. (2006) Fingerprints of environmental change on the rare mediterranean flora : a 115-year study. *Global change biology*, **12**, 1466–1478.
- Laverty, T.M. (1992) Plant interactions for pollinator visits: a test of the magnet species effect. *Oecologia*, **89**, 502–508.
- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1993). Effects of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size, and pollen performance in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany*, 763-768.
- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1994). Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction*, *7*(4), 215-220.
- Lázaro, A., Lundgren, R., & Totland, Ø. (2009). Co-flowering neighbors influence the diversity and identity of pollinator groups visiting plant species. *Oikos*, *118*(5), 691-702.
- Leiss, K.A. & Klinkhamer, P.G.L. (2005) Spatial distribution of nectar production in a natural *Echium vulgare* population: Implications for pollinator behaviour. *Basic and Applied Ecology*, **6**, 317–324.

- Lever, J.J., Nes, E.H., Scheffer, M. & Bascompte, J. (2014) The sudden collapse of pollinator communities. *Ecology letters*, **17**, 350–359.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., & Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current opinion in plant biology*, 6(3), 280–287.
- Lotka, A. (1925). Elements of physical biology. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Lunau, K., & Maier, E. J. (1995). Innate colour preferences of flower visitors. *Journal of Comparative Physiology A*, 177(1), 1–19.
- Luo, E. Y., Ogilvie, J. E., & Thomson, J. D. (2014). Stimulation of flower nectar replenishment by removal : a survey of eleven animal-pollinated plant species. *Journal of Pollination Ecology*, 12(7), 52–62.
- MacArthur, R. H. (1972). *Geographical ecology: patterns in the distribution of species*. Princeton University Press.
- Makino, T.T., Ohashi, K. & Sakai, S. (2007) How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant? *Functional Ecology*, **21**, 87–95.
- Marschner, H. & Dell, B. (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, **159**, 89–102.
- Marschner, H. (1995). Functions of mineral nutrients: macronutrients. *Mineral nutrition of higher plants 2nd Edition*. Academic Press, NY, 299–312.
- Massol, F., Jabot, F., Manel, S. & Munoz, F. (2015) Analyse des réseaux sociaux appliquée à l'éthologie et à l'écologie. , 50.
- Mayer, C., Adler, L., Armbruster, W., Dafni, a, Eardley, C., Huang, S.-Q., Kevan, P., Ollerton, J., Packer, L., Ssymank, a, Stout, J. & Potts, S. (2011) Pollination ecology in the 21st century: key questions for future research. *Journal of Pollination Ecology*, **3**, 8–23.
- Melián, C.J., Bascompte, J., Jordano, P. & Křivan, V. (2009) Diversity in a complex ecological network with two interaction types. *Oikos*, **118**, 122–130.
- Michalet, R., Schöb, C., Xiao, S., Zhao, L., Chen, T., An, L. Z., & Callaway, R. M. (2015). Beneficiary feedback effects on alpine cushion benefactors become more negative with increasing cover of graminoids and in dry conditions. *Functional Ecology*.
- Mitchell, R.J., Karron, J.D., Holmquist, K.G. & Bell, J.M. (2004) The influence of *Mimulus ringens* floral display size on pollinator visitation patterns. *Functional Ecology*, **18**, 116–124.
- Miyake, Y.C. & Sakai, S. (2005) Effects of number of flowers per raceme and number of racemes per plant on bumblebee visits and female reproductive success in *Salvia nipponica* (Labiatae). *Ecological Research*, **20**, 395–403.

- Molina-Montenegro, M. a., Badano, E.I. & Cavieres, L. a. (2008) Positive interactions among plant species for pollinator service: assessing the “magnet species” concept with invasive species. *Oikos*, **117**, 1833–1839.
- Moeller, D. A. (2004). Facilitative interactions among plants via shared pollinators. *Ecology*, **85**(12), 3289–3301.
- Møller, A.P. (1995) Bumblebee preference for symmetrical flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**, 2288–2292.
- Moora, M., & Zobel, M. (1996). Effect of arbuscular mycorrhiza on inter-and intraspecific competition of two grassland species. *Oecologia*, **108**(1), 79–84.
- Mothershead, K., & Marquis, R. J. (2000). Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology*, **81**(1), 30–40.
- Müller, I., Schmid, B., & Weiner, J. (2000). The effect of nutrient availability on biomass allocation patterns in 27 species of herbaceous plants. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, **3**(2), 115–127.
- Muñoz, A.A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L.A. & Arroyo, M.T.K. (2005) Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, **143**, 126–35.
- Muñoz, A.A. & Cavieres, L.A. (2008) The presence of a showy invasive plant disrupts pollinator service and reproductive output in native alpine species only at high densities. *Journal of Ecology*, **96**, 459–467.
- Nakano, S. & Murakami, M. (2001) Reciprocal subsidies : Dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**, 166–170.
- Nötzold, R., Blossey, B. & Newton, E. (1997) The influence of below ground herbivory and plant competition on growth and biomass allocation of purple loosestrife. *Oecologia*, **113**, 82–93.
- Obeso, J. R. (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*, **155**(3), 321–348.
- Ohashi, K. & Yahara, T. (2001) Behavioral responses of pollinators to variation in floral display size and their influences on the evolution of floral traits in *Cognitive ecology of pollination*. Cambridge : Cambridge University Press
- Olesen, J.M., Bascompte, J., Elberling, H. & Jordano, P. (2008) Temporal dynamics in a pollination network. *Ecology*, **89**, 1573–1582.
- Ollerton, J., Alarcon, R., Waser, N.M., Price, M. V., Watts, S., Cranmer, L., Hingston, A., Peter, C.I. & Rotenberry, J. (2009) A global test of the pollination syndrome hypothesis. *Annals of Botany*, **103**, 1471–1480.

- Ollerton, J., Winfree, R. & Tarrant, S. (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, **120**, 321–326.
- Ordano, M., & Ornelas, J. F. (2004). Generous-like flowers: nectar production in two epiphytic bromeliads and a meta-analysis of removal effects. *Oecologia*, *140*(3), 495-505.
- Paine, R.T. (1980) Food webs: linkage, interaction strength and community structure. *The Journal of animal ecology*, **49**, 666–685.
- Partzsch, M. & Bachmann, U. (2011) Is *Campanula glomerata* threatened by competition from expanding grasses? Results from a 5-year pot-experiment. *Plant Ecology*, **212**, 251–261.
- de Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry reviews*, *7*(2), 281-299.
- Peñalver, E., Labandeira, C.C., Barron, E., Delclos, X., Nel, P., Nel, a., Tafforeau, P. & Soriano, C. (2012) Thrips pollination of Mesozoic gymnosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **109**, 8623–8628.
- Petanidou, T., Goethals, V. & Smets, E. (1999) The effect of nutrient and water availability on nectar secretion and nectary structure of the dominant Labiatae species of phrygana. *Systematics and Geography of Plants*, **68**, 233–244.
- Petanidou, T., Van Laere, A., N Ellis, W., & Smets, E. (2006). What shapes amino acid and sugar composition in Mediterranean floral nectars?. *Oikos*, *115*(1), 155-169.
- Pitelka, L. F. (1977). Energy allocations in annual and perennial Lupines (lupinus: Leguminosae). *Ecology*, 1055-1065.
- Pocock, M.J., Evans, D.M. & Memmott, J. (2012) The robustness and restoration of a network of ecological networks. *Science*, **335**, 973–977.
- Potts, S.G., Vulliamy, B., Roberts, S., O’Toole, C., Dafni, A., Ne’eman, G. & Willmer, P.G. (2004) Nectar resource diversity organises flower-visitor community structure. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **113**, 103–107.
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. & Kunin, W.E. (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution*, **25**, 345–53.
- Poveda, K., Steffan-Dewenter, I., Scheu, S. & Tscharntke, T. (2003) Effects of below- and above-ground herbivores on plant growth, flower visitation and seed set. *Oecologia*, **135**, 601–605.
- Poveda, K., Steffan-Dewenter, I., Scheu, S. & Tscharntke, T. (2005) Effect of decomposers and herbivores on plant performance and aboveground plant-insect interactions. *Oikos*, **108**, 503–510.

- Proctor, M., Yeo, P. & Lack, A. (1996) *The Natural History of Pollination* (ed Timber Press Inc.). Portland, Oregon.
- van der Putten, W.H., Vet, L.E.M., Harvey, J.A. & Wäckers, felix L. (2001) Linking above- and below ground multitrophic interactions of plants, hervibores, pathogens and their antagonists. *Trends in ecology & evolution*, **5347**, 547–554.
- van der Putten, W. H., Bardgett, R. D., De Ruiter, P. C., Hol, W. H. G., Meyer, K. M., Bezemer, T. M., ... & Hemerik, L. (2009). Empirical and theoretical challenges in aboveground–belowground ecology. *Oecologia*, *161*(1), 1-14.
- Pyke, G. H. (1978). Optimal foraging in bumblebees and coevolution with their plants. *Oecologia*, *36*(3), 281-293.
- Pyke, G. H. (1982). Foraging in bumblebees: rule of departure from an inflorescence. *Canadian Journal of Zoology*, *60*(3), 417-428.
- Pyke, G.H. (1991) What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature*, **350**, 58–59.
- Rader, R., Bartomeus, I., Garibaldi, L.A., Garratt, M.P.D., Howlett, B.G., Winfree, R., Cunningham, S.A., Mayfield, M.M., Arthur, A.D., Andersson, G.K.S., Bommarco, R., Brittain, C., Carneiro, L.G., Chacoff, N.P., Entling, M.H., Foully, B., Freitas, B.M., Gemmill-Herren, B., Ghazoul, J., Griffin, S.R., Gross, C.L., Herbertsson, L., Herzog, F., Hipólito, J., Jaggar, S., Jauker, F., Klein, A.-M., Kleijn, D., Krishnan, S., Lemos, C.Q., Lindström, S.A.M., Mandelik, Y., Monteiro, V.M., Nelson, W., Nilsson, L., Pattemore, D.E., de O. Pereira, N., Pisanty, G., Potts, S.G., Reemer, M., Rundlöf, M., Sheffield, C.S., Scheper, J., Schüepp, C., Smith, H.G., Stanley, D.A., Stout, J.C., Szentgyörgyi, H., Taki, H., Vergara, C.H., Viana, B.F. & Woyciechowski, M. (2015) Non-bee insects are important contributors to global crop pollination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **113**, 201517092.
- Raguso, R.A . (2001) Floral scent , olfaction and scent-driven foraging behaviour in *Cognitive ecology of pollination*. Cambridge University Press.Cambridge : Cambridge University Press
- Rajaniemi, T. K. (2007). Root foraging traits and competitive ability in heterogeneous soils. *Oecologia*, *153*(1), 145-152.
- Raynaud, X. & Leadley, P.W. (2004) Soil characteristics play a key role in modeling nutrient competition in plant communities. *Ecology*, **85**, 2200–2214.
- Real, L. A. (1981). Nectar availability and bee-foraging on Ipomoea (Convolvulaceae). *Biotropica*, 64-69.
- Ren, D., Labandeira, C.C., Santiago-blay, J.A., Rasnitsyn, A., Shin, C., Bashkuev, A., Logan, M.A. V, Hotton, C.L. & Dilcher, D. (2009) A probable pollination mode before Angiosperms: Eurasian, long-proboscid Scorpionflies. *Science*, **326**, 840–847.
- Ricklefs, R.E. & Miller, G.L. (2005) *Ecologie*, 4e edition (ed D Boeck). Bruxelles.

- Romeis, J. & Wäckers, F.L. (2000) Feeding responses by female *Pieris brassicae* butterflies to carbohydrates and amino acids. *Physiological Entomology*, **25**, 247–253.
- Sauve, A.M.C., Fontaine, C. & Thébault, E. (2014) Structure-stability relationships in networks combining mutualistic and antagonistic interactions. *Oikos*, **123**, 378–384.
- Schenk, H.J. (2006) Root competition: beyond resource depletion. *Journal of Ecology*, **94**, 725–739.
- Shumway, S. W. (2000). Facilitative effects of a sand dune shrub on species growing beneath the shrub canopy. *Oecologia*, *124*(1), 138-148.
- Soper-Gorden, N.L. & Adler, L.S. (2013) Abiotic conditions affect floral antagonists and mutualists of *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). *American Journal of Botany*, **100**, 679–689.
- Southwick, E.E. (1984) Photosynthate allocation to floral nectar : a neglected energy investment. *Ecology*, **65**, 1775–1779.
- Steffan-Dewenter, I., Münzenberg, U., Bürger, C., Thies, C. & Tschamtkke, T. (2002) Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology*, **83**, 1421–1432.
- Steffan-dewenter, I., Potts, S.G. & Packer, L. (2005) Pollinator diversity and crop pollination services are at risk. *Trends in ecology & evolution*, **20**, 651–652.
- Strauss, S.Y. (1991) Indirect effects in community ecology: Their definition, study and importance. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**, 206–210.
- Tansley, A. G. (1917). On competition between *Galium saxatile* L.(*G. hercynicum* Weig.) and *Galium sylvestre* Poll.(*G. asperum* Schreb.) on different types of soil. *The Journal of Ecology*, 173-179.
- Thébault, E. & Fontaine, C. (2010) Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. *Science*, **329**, 853–856.
- Tilman, D. (1980). Resources: a graphical-mechanistic approach to competition and predation. *American Naturalist*, 362-393.
- Tilman, D., & Grace, J. B. (1990). *Mechanisms of plant competition for nutrients: the elements of a predictive theory of competition* (pp. 117-141). Academic Press, Inc.
- Tilman, D., & versus Complexity, V. A. (2012). Competition for Nutrients: The Elements of Theory of Competition. *Perspectives on Plant Competition*, 117.
- Tirard, C., Barbault, R., Abbadie, L. & Loeuille, N. (2012) *Mini Manuel D'écologie* (ed Dunod). Paris.
- Thomann, M., Imbert, E., Devaux, C., & Cheptou, P. O. (2013). Flowering plants under global pollinator decline. *Trends in plant science*, *18*(7), 353-359.

- Toräng, P., Ehrlén, J., & Ågren, J. (2006). Facilitation in an insect-pollinated herb with a floral display dimorphism. *Ecology*, **87**(8), 2113-2117.
- Trinder, C., Brooker, R., Davidson, H., & Robinson, D. (2012). Dynamic trajectories of growth and nitrogen capture by competing plants. *New Phytologist*, **193**(4), 948-958
- Trinder, C.J., Brooker, R.W. & Robinson, D. (2013) Plant ecology's guilty little secret: Understanding the dynamics of plant competition. *Functional Ecology*, **27**, 918–929.
- Tylianakis, J.M. (2013) The Global Plight of Pollinators. *Science*, **339**, 1532.
- UICN, CBNBP & MNHN. (2012) Flore vasculaire de France métropolitaine : Premiers résultats pour 1000 espèces, sous - espèces et variétés. [En ligne]. <http://www.uicn.fr/liste-rouge-flore.html> (consulté en janvier 2016).
- Vanbergen, A.J. & the Insect Pollinator initiative. (2013) Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment*.
- van Veen, F.J.F., Müller, C.B., Pell, J.K. & Godfray, H.C.J. (2008) Food web structure of three guilds of natural enemies : predators , parasitoids and pathogens of aphids. *Journal of Animal Ecology*, **77**, 191–200.
- Violle, C., Garnier, E., Lecoœur, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A., & Navas, M. L. (2009). Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia*, **160**(4), 747-755.
- Volterra, V. (1926). Fluctuations in the abundance of a species considered mathematically. *Nature*, **118**, 558-560.
- van der Wal, R., Egas, M., van der Veen, A. & Bakker, J. (2000) Effects of resource competition and herbivory on plant performance along a natural productivity gradient. *Journal of ecology*, **88**, 317–330.
- Waddington, K. D., & Heinrich, B. (1979). The foraging movements of bumblebees on vertical “inflorescences”: an experimental analysis. *Journal of Comparative Physiology*, **134**(2), 113-117.
- Walsh, M.R. (2013) The evolutionary consequences of indirect effects. *Trends in Ecology and Evolution*, **28**, 23–29.
- Wardle, D. a, Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H. & Wall, D.H. (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, **304**, 1629–33.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M. V, Williams, N.M. & Ollerton, J. (1996) Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**, 1043–1060.
- Weigelt, A. & Jolliffe, P. (2003) Indices of plant competition. *Journal of Ecology*, **91**, 707–720.

- Weiner, J. (1988) The influence of competition on plant reproduction. *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*, pp. 228–245.
- Weiss, M.R. (1997) Innate colour preferences and flexible colour learning in the pipevine swallowtail. *Animal Behaviour*, **53**, 1043–1052.
- Wilson, S.D. & Tilman, D. (1993) Plant competition and resource availability in response to disturbance and fertilization. , 599–611.
- Winfree, R., Williams, N.M., Dushoff, J. & Kremen, C. (2007) Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. *Ecology Letters*, **10**, 1105–1113.
- Xi, X., Griffin, J.N. & Sun, S. (2013) Grasshoppers amensalistically suppress caterpillar performance and enhance plant biomass in an alpine meadow. *Oikos*, **122**, 1049–1057.
- Zimmerman, M. (1981) Patchiness in the dispersion of nectar resources: probable causes. *Oecologia*, **49**, 154–157.

REFERENCES Tableau 1

- Boose, D. L. (1997). Sources of variation in floral nectar production rate in *Epilobium canum* (Onagraceae): implications for natural selection. *Oecologia*, *110*(4), 493-500.
- Burkle, L. A., & Irwin, R. E. (2009). The effects of nutrient addition on floral characters and pollination in two subalpine plants, *Ipomopsis aggregata* and *Linum lewisii*. *Plant Ecology*, *203*(1), 83-98.
- Campbell, D. R., & Halama, K. J. (1993). Resource and pollen limitations to lifetime seed production in a natural plant population. *Ecology*, 1043-1051.
- Crone, E. E., & Lesica, P. (2006). Pollen and water limitation in *Astragalus scaphoides*, a plant that flowers in alternate years. *Oecologia*, *150*(1), 40-49.
- Juenger, T., & Bergelson, J. (1997). Pollen and resource limitation of compensation to herbivory in scarlet gilia, *Ipomopsis aggregata*. *Ecology*, *78*(6), 1684-1695.
- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1993). Effects of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size, and pollen performance in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany*, 763-768.
- Leiss, K. A., & Klinkhamer, P. G. L. (2005). Genotype by environment interactions in the nectar production of *Echium vulgare*. *Functional Ecology*, *19*(3), 454-459.
- Muñoz, A. A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L. A., & Arroyo, M. T. (2005). Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, *143*(1), 126-135.

- Wyatt, R., Broyles, S. B., & Derda, G. S. (1992). Environmental influences on nectar production in milkweeds (*Asclepias syriaca* and *A. exaltata*). *American Journal of Botany*, 636-642.
- Zimmerman, M. (1983). Plant reproduction and optimal foraging: experimental nectar manipulations in *Delphinium nelsonii*. *Oikos*, 57-63.
- Zimmerman, M., & Pyke, G. H. (1988). Reproduction in *Polemonium*: assessing the factors limiting seed set. *American Naturalist*, 723-738.

PHOTOGRAPHIES

• Page 20

p 20 **Ascaris lumbricoides** : CDC Division of Parasitic Diseases (avec modifications)

Disponible sur :

https://fr.wikipedia.org/wiki/Ascaris_%28parasite%29#/media/File:Ascaris_lumbricoides.jpeg
Domaine public

p20 **Chat** : kitty.green66 (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/53887959@N07/4984783051/in/photolist-dsbh3K-bHLWy6-CZRjsC-aFz6XB-7C3Daz-CdRybQ-fd7sCV-zTfZQe-dHwdYt-aFddj7-nn1xov-drdsWZ-8Aujkn-aVxm8M-tzpmQX-dX6v1a-e4macn-nKua5P-8TLpcw-brwaqP-5zg3Hv-b5uvqi-fpiJt-nxsj7L-bgi3dx-oo6L2R-8VebM3-7cDB17-hRzAxq-5mgnd-ukRhNc-bso3uD-ozN8y9-xAndde-e9DBr3-4Sn3XR-nKtaWT-bKNczp-nKu1sP-8FGWNT-rbZkQv-aFd1rR-oF9hK8-4pG6dW-fxsntY-e4rLws-aDxGsp-kaLrRj-aCKte9-aC4CQf>
<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0/>

p20 **Chenille** : Patrick Randall (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/animaliaproject/18024928141/>
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>

p20 **Criquet** : Andrew Magill (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/amagill/39382721/in/photolist-4tR7r>
<https://creativecommons.org/licenses/by/2.0/>

p20 **Milan noir** : Eugène Archer (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/eugenearcher/14958281972/>
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>

p20 **Moineau** : Arseni Mourzenko (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/129494664@N04/20772319461>
<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0/>

p20 **Mulot** : Hans Hillewaert (avec modifications)

Disponible sur :

https://en.wikipedia.org/wiki/Wood_mouse#/media/File:Apodemus_sylvaticus_%28Sardinia

%29.jpg

<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>

p20 **Personnage** (avec modifications)

Disponible sur : <https://pixabay.com/fr/l-homme-debout-personne-hommes-309030/>

Domaine public

p20 **Termite** : Aaron Pomerantz (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/127620932@N06/19452266313/in/photolist-vCVX4X-bXLZBu-h1ZprF-bDpAQs-bDpAGu-eqqeCj-5arScc-aFbD5D-5q5b6a-7JMAKK-ct2XmJ-BjuNFH-8S6Ruv-udX7nr-arZ7Cw-aMN9gv-mc4WBr-9wSBQG-8hQCMR-8VEFsr-aMN9uc-mc5YzU-cDgYtf-gkPuYP-ceWuXj-6VGbBb-9Ka8bR-dbRyXy-6yw7tF-5gzT7z-jPkoYM-9dVWz2-dp5tsP-8eazk8-7nPqQd-5wKXfE-r5Hay-7nPmWb-7nPmZN-7nPn77-groHJF-owpFX8-7nKroV-7nKtop-v727po-7nPmSC-7nKtiv-7nKtcV-7nKrSn-8EonXh>
<https://creativecommons.org/licenses/by/2.0/>

p20 ***Trichonympha campanula*** : Tai V, James ER, Perlman SJ, Keeling PJ - Tai V, James ER, Perlman SJ, Keeling PJ (2013). "Single-cell DNA barcoding using sequences from the small subunit rRNA and internal transcribed spacer region identifies new species of *Trichonympha* and *Trichomitopsis* from the hindgut of the termite *Zootermopsis angusticollis*". *PLoS ONE* 8 (3): e58728. (avec modifications)

<http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/>

- **Page 20 et/ou autres pages du manuscrit**

p26, 43 et 119 **Abeille** : Rene Walter (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/nerdcoreblog/13622413405/in/photolist-mKLqUD-ei6FSg-9REdDK-9pQSMs-MfXAP-Mgvjb-839LDy-Mgvjm-Mgvjl-dVUEX-Mgvjo-gnquU-bR2dF-bR2dE-6JQNZA-9pMRpB-74aWdP-9pMRaR-6sTk1t-cmWSdA-bR2dG-fJP7V2-aQh5Dz-xDsKcS-dKNmngg-bUG8oK-cbjm21-cicqc1-ctPwpW-3Dj8a-J5yM-bskDi2-dKNm5n-9ryNrL-cbjiDQ-ckSgcU-cbjrfQ-cbjrpo-82ffpF-akf8Vm-bskD14-cbjjjG-iD5qrf-5aGYcL-8xFsfZ-foCGNQ-MXHU1-bE6hrp-wbzzuA-njzZRC>
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>

p43, 54, 75 et 119 ***Agrostis sp.*** (tiré de: *Icones et descriptiones Graminum austriacorum* de Nikolai T. Host (1801); avec modifications)

Public domain : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Apera_spica-venti.jpg

p43, 75 et 119 **Bourdon** : Alain Henrion (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/54alain2309/16990504727/>
<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0/>

p20, 43, 54, 75 et 119 ***Echium vulgare***. (tiré de : *Dictionnaire des plantes suisses* (1853); avec modifications)

Public domain : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Echium_vulgare_L_ag1.jpg

p 20, 43 et 119 **Papillon** : Rob Mills (avec modifications)

Disponible sur : https://www.flickr.com/photos/skully_bob/17267480071/

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>

P20, 43 et 119 ***Sinapis alba***. (tiré de: *Köhler's Medizinal-Pflanzen* de Franz Eugen Köhler (1897) ; avec modifications)

Public domain : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sinapis_alba_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-265.jpg

p43 et 119 ***Syrphe*** : Don Loarie (avec modifications)

Disponible sur : <https://www.flickr.com/photos/loarie/8686237494/>

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>

- Résumé -

Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs: cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles

Afin d'attirer les pollinisateurs, les espèces végétales entomophiles produisent des fleurs et des récompenses associées comme le nectar et le pollen. Plusieurs études ont démontré que la production de ces traits d'attractivité est sensible aux variations de ressources dans le milieu (azote, phosphore). Puisque la compétition entre plantes peut modifier la disponibilité et la quantité de ressources dans le milieu, nous nous sommes intéressés à son effet sur les traits d'attractivité aux pollinisateurs. Dans cette thèse nous nous sommes concentrés sur la compétition entre des espèces entomophiles et anémophiles, ces dernières étant rarement intégrées aux études des réseaux plantes-pollinisateurs. Après une première expérience en serre, nous avons démontré que la présence d'une espèce anémophile compétitive réduisait la production de fleurs et de nectar chez une espèce entomophile. Cette diminution est d'autant plus forte que l'espèce anémophile est compétitive. Afin de savoir si ces modifications d'attractivité potentielle pouvaient influencer l'attractivité réelle d'une plante entomophile, nous avons réalisé deux expériences en conditions contrôlées, en serre et au champ. Au cours de ces expériences, nous avons étudié le comportement de visite de pollinisateurs sur des espèces entomophiles en compétition avec une espèce anémophile. Ces deux études suggèrent un rôle majeur de la compétition sur la production de fleur et de la vitrine florale dans l'attraction des pollinisateurs. Plus précisément, nous avons observé dans l'expérience en champs une diminution du nombre total de visites des pollinisateurs sauvages, lorsque les plantes étaient en compétition, en relation avec une diminution de la production de fleurs et de la vitrine florale. Concernant la production de nectar, nous n'avons observé aucun effet au niveau de la fleur, suggérant que les espèces entomophiles pouvaient favoriser la production de récompenses au détriment de la production de fleurs. Néanmoins, le nombre de fleurs étant réduit par la compétition, cette dernière semble avoir un effet sur la production de nectar à l'échelle de la plante. Enfin, la modification du nombre de visites de pollinisateurs, via cette compétition induite par la présence d'une espèce anémophile, pourrait affecter le succès reproducteur des espèces visitées. En effet, chez une des espèces entomophiles étudiées, nous avons pu noter une diminution du taux de fécondité en conditions de compétition. Par conséquent, bien que n'interagissant pas directement avec les pollinisateurs, les espèces anémophiles peuvent moduler les interactions plantes-pollinisateurs via des relations de compétition. Ainsi, cette thèse soulève de nouvelles perspectives pour l'étude des réseaux plantes-pollinisateurs, qui se focalisent généralement sur les plantes entomophiles, en les ouvrant à l'ensemble de la communauté végétale.

- Abstract -

Influence of plant interactions on insect-pollinated species and their attractiveness to pollinators: the case of competition induced by wind-pollinated plant species

In order to attract pollinators, insect-pollinated plants display several traits such as flowers, and associated rewards (i.e. pollen and nectar). Several studies have demonstrated that these traits can be sensitive to variation of resources (e.g. nitrogen, phosphorous). As competition between plants can modify resource availability, it also has the potential to influence floral traits involved in attractiveness to pollinators. In this thesis, we focused on competitive interactions between insect-pollinated and wind-pollinated plants as the latter are almost never taken into account in plant-pollinator networks. Therefore, in a first pot experiment in a greenhouse, we showed that the presence of a competitive wind-pollinated species could indeed alter flower and nectar production. Especially, the stronger the competitor, the stronger is the effect on floral traits. To test if such modifications of potential attractiveness could have an influence on actual attractiveness we set up two more experiments, one in a greenhouse experiment and one outdoor, in which we studied pollinator visits on insect-pollinated plants competing with wind-pollinated plants for soil resources. For pollinator visits, these two experiments suggest an important role of competition on pollinator attraction through modification of flower production. Especially in the outdoor experiment, there was a decrease in the total number of pollinator visits in presence of belowground competition, in relation to a decrease in flower production and floral display size. Concerning nectar production, we found no influence of competition at the flower level, meaning that insect-pollinated plants might favour reward production to promote pollinator revisitation at the expense of flower production. However, the number of flowers being reduced by competition, the latter seems to have an effect on the production of nectar at the plant level. Finally the modification of pollinator visits through competition with a wind-pollinated plant might have an influence on insect-pollinated plant reproductive success as we observed a decrease of the fecundity ratio of the studied insect pollinated plant species. Therefore, even though they do not interact directly with pollinators, wind-pollinated plant species can modulate plant-pollinator interactions, through competitive interactions. This thesis thus raises new perspectives for the study of plant-pollinator networks, which are generally focused on insect-pollinated plants, by opening them up to the whole plant community.